

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 994 668**

21 Número de solicitud: 202330630

51 Int. Cl.:

A61K 31/192 (2006.01)

A61K 31/115 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

24.07.2023

43 Fecha de publicación de la solicitud:

29.01.2025

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDAD PABLO DE OLAVIDE (100.00%)
CT. de Utrera, Km. 1
41013 Sevilla (Sevilla) ES**

72 Inventor/es:

**LÓPEZ LLUCH, Guillermo;
CORTÉS RODRÍGUEZ, Ana Belén;
RODRÍGUEZ AGUILERA, Juan Carlos y
NAVAS LLORET, Plácido**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

54 Título: **Uso del ácido para-hidroxibenzóico y sus intermediarios como adyuvantes en el tratamiento del cáncer**

57 Resumen:

Uso del ácido para-hidroxibenzóico y sus intermediarios como adyuvantes en el tratamiento del cáncer.

La presente invención se refiere al uso del ácido para-hidroxibenzóico, del 4-hidroxifenilpiruvato o del 4-hidroxí-benzaldehído, o una composición que lo comprende, como adyuvante en el tratamiento de enfermedades asociadas a una deficiencia de coenzima Q10, como composición nutricional o para su uso cosmético.

ES 2 994 668 A1

DESCRIPCIÓN

Uso del ácido para-hidroxibenzóico y sus intermediarios como adyuvantes en el tratamiento del cáncer

5

La presente invención se refiere al uso del ácido para-hidroxibenzóico, del 4-hidroxi-fenilpiruvato o del 4-hidroxi-benzaldehido, o una composición que lo comprende, como adyuvante en el tratamiento de enfermedades asociadas a una deficiencia de coenzima Q10, como composición nutricional o para su uso cosmético.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15

Las células cancerosas modifican su actividad metabólica desarrollando una actividad glucolítica en presencia de oxígeno, conocida como glucolisis aeróbica, y manteniendo una actividad mitocondrial más encaminada a la generación de nuevas moléculas que a la actividad catabólica para la producción de energía (Warburg O, 1956; PMID 13298683). A este cambio metabólico se le conoce como efecto Warburg. Esta modificación metabólica permite que las células cancerosas presenten un crecimiento celular prácticamente constante (Vander Heiden MG, 2009; PMID19460998).

20

En este proceso, la glucolisis proporciona los componentes moleculares necesarios para el crecimiento celular mientras que la actividad mitocondrial proporciona los nucleótidos necesarios para la síntesis de los ácidos nucleicos (López-Lázaro M, 2008; PMID 18393789).

25

30

La reversión del metabolismo glucolítico de las células tumorales ha sido propuesta como posible diana terapéutica para el tratamiento de ciertos cánceres como glioblastoma o cáncer de pulmón de células no pequeñas. La reactivación de la actividad respiratoria mitocondrial contribuiría de forma importante a la reversión del efecto Warburg, a una reducción en la cantidad de moléculas disponibles para el crecimiento celular y, por tanto, a la reducción de éste (Poteet et al., 2013; PMID: 23408428; De Rosa et al., 2015; PMID: 26216352).

35

El desarrollo de compuestos capaces de revertir el efecto Warburg (Tyagi et al., 2021; PMID: 33971276) se ha presentado como importante en los tratamientos quimioterápicos. Una deficiencia en la síntesis de coenzima Q en las células

cancerosas, permite proponer que tratamientos que aumenten la síntesis de este agente esencial para la actividad respiratoria podría ser esencial como adyuvante en el tratamiento del cáncer.

5 DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

Los inventores han observado que la incubación de células tumorales con ácido para-hidroxibenzóico o 4-hidroxi-benzóico (pHB o 4-HB), así como con sus intermediarios el 4-hidroxi-fenilpiruvato o para-hidroxi-fenilpiruvato (4-HPyr o p-HPyr) y el 4-hidroxi-benzaldehido o p-hidroxi-benzaldehido (4-HBz o p-HBz), provoca un cambio metabólico en ellas incrementando su actividad respiratoria mitocondrial a la vez que revierte el efecto Warburg. Este efecto está relacionado con la deficiencia en la síntesis de coenzima Q mitocondrial en las células tumorales (Figura 1).

Como se puede ver en la figura 2, las células HEK (células humanas embrionarias inmortalizadas de riñón), HEPG2 (células de hepatocarcinoma humano), HCT116 (células de cáncer de colon humano) y CALU3 (línea celular de cáncer de pulmón humano) aumentan los niveles de coenzima Q10 por mg de proteína tras la suplementación con pHB.

El efecto del pHB es debido a que las células tumorales, por su alta tasa de crecimiento, utilizan los aminoácidos como la tirosina, precursor natural del pHB para actividades de síntesis proteica en lugar de para actividades de síntesis de compuestos como el Coenzima Q10. Este efecto, sumado al hecho de que las mitocondrias actúan en células tumorales más con una labor de síntesis de compuestos que de metabolismo y generación de energía hace que la adición de pHB revierta la actividad mitocondrial de las células tumorales haciéndolas más sensibles a la acción de fármacos anti-cancer, regulando así la capacidad de las células tumorales y permitiendo su uso como adyuvante de terapias contra el cáncer.

Finalmente, tal como se demuestra en la figura 7, tanto el p-HPyr como el p-HBz fueron capaces de incrementar los niveles de CoQ10 en estas células alcanzando los niveles obtenidos por la incubación con pHB y casi duplicando los niveles de CoQ10 de estas células.

35

Así, en un primer aspecto, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula (I):



donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, de aquí en adelante “el compuesto de la invención”, para su uso como adyuvante en el tratamiento de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10 o para el tratamiento de los efectos secundarios tras la aplicación de quimioterapia, donde los efectos secundarios son la reducción de coenzima Q10, de aquí en adelante el “uso de la invención”.

Alternativamente, la presente invención se refiere al uso del compuesto de fórmula (I) de la invención como adyuvante en el tratamiento de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10 o para el tratamiento de los efectos secundarios tras la aplicación de quimioterapia, donde los efectos secundarios son la reducción de coenzima Q10.

El compuesto de fórmula (I) donde la R es -COOH corresponde al ácido para-hidroxibenzóico. El “ácido para-hidroxibenzóico”, “ácido 4-hidroxibenzóico”, “pHB” o “4-pHB” se refiere a un derivado fenólico del ácido benzoico, comercializado por la industria química ya que es conocido por ser la base para la preparación de sus ésteres, los parabenos, muy utilizados en cosmética y farmacia. De forma natural se encuentra en plantas del género *Vitex* o *Hypericum* o en el alga verde *Spongiochloris spongiosa* o en el hongo *Ganoderma lucidum*. En nutrición, se encuentra en el coco, y en infusiones de té, en la vainilla o en el vino. Químicamente es el precursor de la cabeza fenólica del coenzima Q, componente lipídico esencial de las membranas celulares donde ejerce de antioxidante y, especialmente, de la membrana mitocondrial interna donde ejerce de transportador de electrones en la cadena respiratoria.

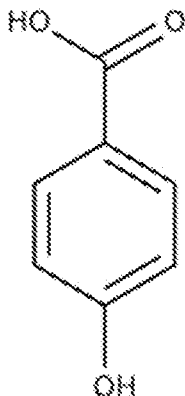
El compuesto de fórmula (I) donde la R es -CH₂-CO-COOH corresponde al ácido para-hidroxi-fenilpiruvato o 4-hidroxi-fenilpiruvato o ácido para-hidroxi-fenilpirúvico (p-HPyr o 4-HPyr), derivado fenólico del ácido benzoico que presenta como unido un grupo piruvato (o -CH₂-CO-COOH) en posición 4.

El compuesto de fórmula (I) donde la R es -COH corresponde al para-hidroxi-benzaldehído, o 4-hidroxi-benzaldehído (p-HBz o 4-HBz), el cual es producto de la decarboxilación del p-HPyr y presenta un grupo aldehído (-COH) en la posición 4.

5

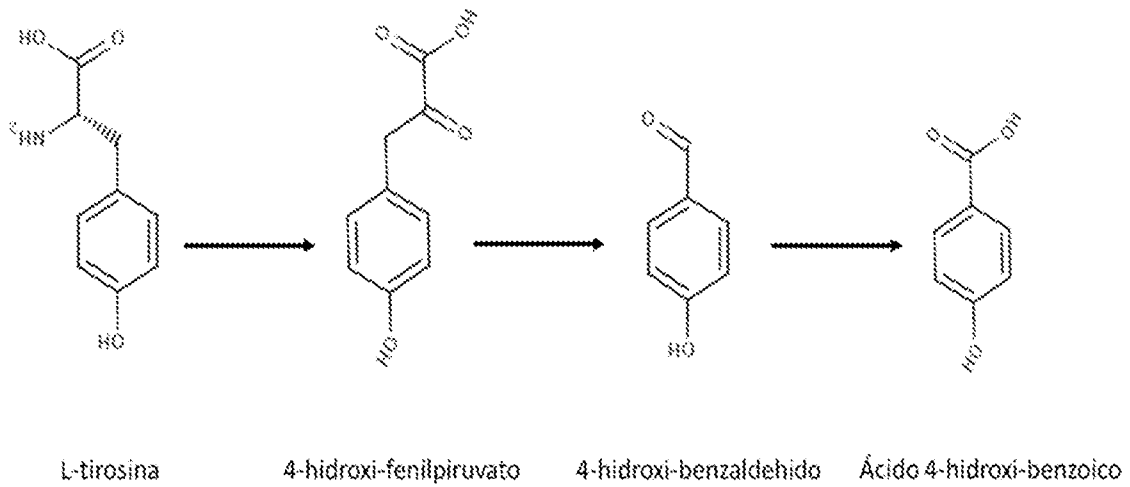
El para-hidroxi-fenilpiruvato (p-HPyr) y el p-hidroxi-benzaldehído (p-HBz), son compuestos precursores en la ruta natural de síntesis del ácido p-hidroxibenzoico que provienen de la metabolización del aminoácido L-tirosina.

10 La fórmula del ácido para-hidroxibenzoico de la invención es:



A partir del aminoácido tirosina se genera el ácido 4-hidroxi-fenilpiruvato o p-HPyr mediante deaminación por una enzima deaminasa caracterizada principalmente en organismos procariotas, eucariotas inferiores y plantas (Manley and Chapman, 1979; PMID: 16661087). Sin embargo, en animales esta ruta no ha sido aún aclarada. A partir del p-HPyr se produce una decarboxilación dando lugar a 4-hidroxi-benzaldehído o p-HBz que, por deshidrogenación se transforma en 4-hidroxi-benzoato o p-HB (Guerra y Pagliarini, 2023; PMID: 36702698).

20



En una realización preferida del uso de la invención, la R del compuesto de fórmula (I) de la invención es -COOH, es decir, el ácido para-hidroxibenzóico.

5

El término "adyuvante" tal como se usa en la presente invención se refiere a un agente, compuesto, elemento o sustancia que no posee un efecto anticancerígeno por sí mismo, sino que, incorporado o proporcionado simultáneamente con un tratamiento o agente contra el cáncer, incrementa, estimula o aumenta la respuesta anticancerígena. Por otro lado, se considera como adyuvante a los compuestos en todas aquellas enfermedades en las que su presencia incrementa la síntesis endógena de coenzima Q10 en pacientes con deficiencia en combinación con otros tratamientos.

10

El término "tratamiento (o "tratar") se refiere a procesos que implican una ralentización, interrupción, suspensión, control, detención, mejora o inversión del avance o gravedad de un síntoma, trastorno, afección o enfermedad existente, pero puede no implicar necesariamente una eliminación total de todos los síntomas relacionados con la enfermedad, afecciones o trastornos asociados con enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10. El tratamiento de un trastorno o enfermedad puede, por ejemplo, conducir a una interrupción en el avance del trastorno o enfermedad (p. ej., sin deterioro de los síntomas) o un retardo en la progresión del trastorno o enfermedad (en caso de que la interrupción de la progresión sea sólo de naturaleza transitoria). El "tratamiento" de un trastorno o enfermedad también puede conducir a una respuesta parcial (p. ej., mejora de los síntomas) o una respuesta completa (p. ej., desaparición de síntomas) del sujeto/paciente que padece el trastorno o la enfermedad.

15

20

25

Se entiende por “efectos secundarios tras la aplicación de quimioterapia, donde los efectos secundarios son la reducción de coenzima Q10” al conjunto de síntomas, efectos adversos o reacciones adversas tras la aplicación de un medicamento, particularmente de quimioterapia, que conllevan una reducción significativa en los niveles (o síntesis) de coenzima Q10.

Se entiende por “enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10” al conjunto de enfermedades que presenten una reducción significativa en los niveles (o síntesis) de coenzima Q10, o un aumento en el deterioro de dicha molécula, en las células y tejidos y cuyos síntomas, total o parcialmente, pueden ser revertidos por la suplementación con coenzima Q10 o con la administración de precursores que incrementen su síntesis endógena.

Ejemplo de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10 incluyen, sin limitar a, cáncer, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer, síndrome metabólico, diabetes tipo II, infección por VIH ((virus de la inmunodeficiencia humana), enfermedades autoinmunes, inflamación crónica, deficiencia renal crónica, infertilidad, distrofias musculares, debilidad general o fibromialgia.

Así, en una realización preferida la invención se refiere al uso del compuesto de fórmula (I) de la invención como adyuvante en el tratamiento de cáncer, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer, síndrome metabólico, diabetes tipo II, infección por VIH, enfermedades autoinmunes, inflamación crónica, deficiencia renal crónica, infertilidad, distrofias musculares, debilidad general o fibromialgia.

Se entiende por “cáncer” el conjunto de enfermedades en las cuales el organismo produce un exceso de células malignas (células tumorales, cancerígenas o cancerosas), con crecimiento descontrolado y división más allá de los límites normales, que en estadios avanzados conduce a la invasión del tejido circundante y, finalmente, a metástasis. Comprende cualquier enfermedad de un órgano o tejido en un mamífero, preferiblemente humano, caracterizada por una multiplicación pobremente controlada, o descontrolada, de células en dicho tejido, y su efecto en la totalidad del cuerpo.

Se entiende por “enfermedades cardiovasculares” a aquellas que afectan al funcionamiento del corazón y los vasos sanguíneos en su conjunto. Se entiende como

“Parkinson” a la pérdida de neuronas de la sustancia nigra del cerebro que provoca descoordinación motora. Se entiende como “Alzheimer” a una enfermedad neurodegenerativa que provoca la pérdida de memoria y de capacidad ejecutiva. Se entiende como “síndrome metabólico” a un grupo de afecciones que aumenta el riesgo de sufrir cardiopatías coronarias, diabetes y accidentes cerebrovasculares. Este

5 de sufrir cardiopatías coronarias, diabetes y accidentes cerebrovasculares. Este síndrome se debe a la conjunción de alta presión arterial, alta glucemia, trigliceremia y/o colesterol en sangre. Se entiende por “diabetes tipo II” a una respuesta deficiente a la insulina que acaba produciendo incremento en la glucemia en sangre. Se entiende por “infección por VIH” a la infección provocada por el virus de la inmunodeficiencia humana

10 que conduce a la pérdida de capacidad inmunitaria por depleción de linfocitos T. Se entiende por “enfermedades autoinmunes” a aquellas enfermedades asociadas a la deficiencia de la actividad inmunitaria que provoca su actividad contra el propio organismo. Se entiende por “inflamación crónica” a un proceso en el que los factores inmunitarios que generan la respuesta inflamatoria se liberan de forma crónica generando señales que afectan a la fisiología general del organismo. Se entiende por

15 “deficiencia renal crónica” a la incapacidad de los riñones para filtrar la sangre de una manera equilibrada provocando acumulación de sustancias de desecho en la sangre. Se entiende por “distrofia muscular” a un grupo de enfermedades que provocan debilidad progresiva y pérdida de masa muscular en los individuos. Se entiende por

20 “debilidad general o fibromialgia”, a un síndrome complejo en el que se produce debilidad en la función muscular acompañada por dolor de bajo a alto grado.

Tal como entiende el experto en la materia, el compuesto de fórmula (I) de la invención puede estar comprendido en una composición, preferiblemente una composición

25 farmacéutica o una composición nutricional o alimentaria.

Así, otro aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica, de aquí en adelante la “composición farmacéutica de la invención”, que comprende el compuesto de fórmula (I) de la invención para su uso como adyuvante en el tratamiento

30 de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10.

En una realización preferida del uso de la composición farmacéutica, en donde la enfermedad asociada a deficiencia de coenzima Q10 es cáncer, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer, síndrome metabólico, diabetes tipo II, infección

35 por VIH, enfermedades autoinmunes, inflamación crónica, deficiencia renal crónica,

infertilidad, distrofias musculares, debilidad general o fibromialgia.

En otra realización preferida del uso de la presente invención la composición farmacéutica además comprende un vehículo o excipiente farmacéuticamente
5 aceptable y/o un principio activo antitumoral.

Como se emplea aquí, el término "principio activo antitumoral" significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención del cáncer. El
10 término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto. Ejemplos de principios activos antitumorales incluyen, sin limitar a agentes alquilantes como busulfán, carboplatino, cisplatino, ciclofosfamida, melfalán, oxaliplatino; nitrosoureas como la
15 carmustina, lomustina o la estreptozocina; antimetabolitos como azacitina, 5-fluorouracilo, clofarabina, decitabina, hidroxiurea; antibióticos como las antraciclinas o la bleomicina, dactinomicina, mitomicina C; inhibidores de la topoisomerasa I y II como el ironotecán y camptotecinas, el etopósido; inhibidores de la mitosis como taxanos o alcaloides de la vinca; corticoesteroides como la prednisona o la dexametasona y otros
20 medicamentos asociados a la quimioterapia, a la inmunoterapia o terapia hormonal.

En otra realización preferida del uso de la presente invención, los principios activos antitumorales son aunque no en exclusividad, doxorubicina (agente radiosensibilizante), trastuzumab (medicamento antagonista del receptor de HER2),
25 sunitinib (inhibidor multicinasas), cisplatino (o cis-diaminodicloroplatino(II) es un agente alquilante basado en el platino) o 5-fluorouracilo (antimetabolito anticancerígeno).

El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" se refieren a aquellas sustancias, o combinación de sustancias, conocidas en el sector farmacéutico, utilizadas en la
30 elaboración de formas farmacéuticas de administración que facilitan la incorporación de otros compuestos para permitir una mejor dosificación y administración o para dar consistencia y forma a la composición. Ejemplos de vehículos incluyen, pero sin limitarse a, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos.

35 El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que

ayuda a absorber cualquiera de los componentes de la composición de la invención, estabiliza dichos componentes o ayuda en la preparación de la composición en el sentido de darle consistencia o, si es necesario, proporcionar sabores que los hacen más agradables. Por tanto, los excipientes podrían tener la función de mantener unidos
5 los componentes, tales como, por ejemplo, almidones, azúcares o celulosas, una función edulcorante, una función colorante, la función de proteger el medicamento, tal como, por ejemplo, aislarlo del aire y/o la humedad, una función de carga para un comprimido, cápsula o cualquier otra forma de formulación, tal como, por ejemplo, fosfato de calcio dibásico, una función de disgregación para facilitar la disolución de los
10 componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otros tipos de excipientes no mencionados en este párrafo. Por lo tanto, el término "excipiente" se define como cualquier material incluido en las formas galénicas que se añade a los principios activos o sus asociaciones para permitir su preparación y estabilidad, modificar sus propiedades organolépticas o determinar las propiedades fisicoquímicas de la composición y su
15 biodisponibilidad. El excipiente "farmacéuticamente aceptable" debe permitir la actividad de los compuestos de la composición farmacéutica, es decir, para que sea compatible con dichos componentes. Son ejemplos de excipientes aglutinantes, cargas, disgregantes, lubricantes, productos de recubrimiento, edulcorantes, aromatizantes y colorantes. Son ejemplos más específicos, no limitantes, de excipientes aceptables
20 almidones, azúcares, xilitol, sorbitol, fosfato de calcio, grasas esteroides, talco, sílice o glicerina, entre otros.

Tal como entiende el experto en la materia, el compuesto o la composición de la invención se pueden usar como adyuvantes en el tratamiento del cáncer. Ejemplos de
25 cáncer incluyen, sin limitar a, cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon o recto, cáncer de pulmón, linfoma no Hodgkin y otros linfomas, melanoma, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer óseo, cáncer de timo, cáncer de endometrio o uterino o de cuello del útero, glioblastomas o neuroblastomas.

30

En otra realización preferida del uso de la presente invención, el cáncer es cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon o recto, cáncer de pulmón, linfoma no Hodgkin y otros linfomas, melanoma, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer óseo, cáncer de timo, cáncer de endometrio o
35 uterino o de cuello del útero, glioblastomas o neuroblastomas.

La dosificación o concentración para obtener una cantidad adyuvante efectiva depende de una variedad de factores como, por ejemplo, la edad, peso, sexo o tolerancia del sujeto o paciente, donde tal como se usa en la presente invención, la expresión
5 "cantidad adyuvante efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de fórmula (I) de la invención o composición que lo comprende necesaria para incrementar, estimular o aumentar la respuesta de un tratamiento de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10.

10 En otra realización preferida del uso de la presente invención, la concentración del compuesto de fórmula (I) de la invención podría ser de entre 100 y 5000 mg/día. Debido a su prácticamente nula toxicidad, mayores concentraciones podrían ser utilizadas según la necesidad preferiblemente de 100 a 1000 mg/día.

15 En otra realización preferida de la composición de la invención, la composición farmacéutica está formulada para su administración en forma líquida o sólida.

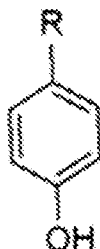
Las composiciones de la presente invención pueden administrarse por vías de administración oral, parenteral (p. ej., intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, ICV,
20 inyección o infusión intracisternal, inyección subcutánea o implante), preferiblemente administración oral e intraperitonealmente, y también mediante pulverización por inhalación, nasal, vaginal, rectal, sublingual, bucal o tópica y se pueden formular, solas o de forma conjunta, en formulaciones unitarias de dosificación adecuadas que contienen portadores, adyuvantes y vehículos convencionales no tóxicos
25 farmacéuticamente aceptables adecuados para cada vía de administración. Las composiciones farmacéuticas que contienen el principio activo antitumoral pueden estar en forma adecuada para su uso oral, por ejemplo, como comprimidos, grageas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, soluciones, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires.

30

Además, tal como entiende un experto en la materia, el compuesto de fórmula (I) de la invención puede estar comprendido en una composición nutricional, por ejemplo, un suplemento deportivo, para aumentar la síntesis de coenzima Q10 endógena de deportistas.

35

Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere al uso no terapéutico del compuesto de fórmula (I) de la invención:



5 donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, para aumentar la síntesis de coenzima Q10 endógena.

En otra realización preferida del uso no terapéutico, el compuesto de fórmula (i) está comprendido en una composición nutricional o alimentaria.

10 Los términos "composición nutricional", "nutracéutico" o "composición alimentaria", usados indistintamente en la presente invención, se refieren a ese alimento o composición que, independientemente de que proporcione nutrientes al sujeto que lo toma, afecta beneficiosamente a una o más funciones del organismo, de modo que proporcione una mejor salud y bienestar. Como consecuencia, dicha composición
 15 nutricional puede usarse para la prevención y/o el tratamiento de una enfermedad o el factor que provoca una enfermedad. Por lo tanto, el término "composición nutricional" de la presente invención se puede usar como sinónimo de alimento funcional o alimento para fines nutricionales específicos.

20 En otra realización preferida de la invención, la composición nutricional es un alimento o un complemento nutricional.

Los términos "complemento", "complemento dietético", "complemento nutricional" o "complemento alimentario", usados indistintamente en la presente invención, se refieren
 25 a un "ingrediente alimentario" destinado a complementar la dieta. Ejemplos de complementos dietéticos incluyen, sin limitación, vitaminas, minerales, sustancias vegetales, aminoácidos y componentes alimentarios tales como enzimas y extractos glandulares. No se presentan como sustitutos de un alimento convencional ni como componente único de una comida o dieta, sino como complemento de la dieta. Pueden
 30 presentarse como sólidos o líquidos para ingestión o para administración tópica (local)

(como, por ejemplo, en una formulación en aerosol).

Finalmente, el compuesto de fórmula (I) de la invención puede usarse cosméticamente para evitar el envejecimiento, ya que la síntesis de CoQ10 disminuye a edades
5 avanzadas.

Por ello, otro aspecto de la invención se refiere al uso cosmético (no terapéutico) del compuesto de fórmula (I):



10 donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, o de una composición que comprende el compuesto de fórmula (I).

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) y un agente o principio activo antitumoral.

15

Los términos “composición farmacéutica”, “el compuesto de fórmula (I)” y “agente o principio activo antitumoral” ya han sido descritos anteriormente y aplican de igual modo en este aspecto de la invención, así como sus realizaciones preferidas.

20 DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. Efecto de la incubación con pHB durante 6 días sobre la cantidad de coenzima Q10 (CoQ10). La gráfica muestra los niveles de coenzima Q10 en células en cultivo tratadas o no con el precursor de la cabeza polar del coenzima Q10 (pHB). Las células
25 utilizadas fueron HDF-Neo (fibroblastos de dermis de neonatos), MRC5 (línea de fibroblastos humanos de pulmón), IMR90 (línea humana de fibroblastos de pulmón); HEK (células humanas embrionarias inmortalizadas de riñón), HEK ACOQ6 (células humanas embrionarias inmortalizadas de riñón deficientes en la síntesis de coenzima Q10 por mutación de uno de las enzimas intervinientes en su síntesis), HepG2 (línea
30 celular tumoral de hepatocarcinoma), HeLa (línea celular tumoral humana de cáncer de

cervix uterino), HCT116 (línea celular tumoral humana de cáncer de colon), CALU3 (línea celular tumoral humana de adenocarcinoma de pulmón).

Figura 2. Actividad acoplada de los complejos mitocondriales II + III de la cadena de transporte de electrones mitocondrial en células incubadas con pHB. Se indica la actividad de la cadena de electrones mitocondrial (actividad de complejo II + III) dependiente de la cantidad de coenzima Q10. La actividad está referida a la cantidad de masa mitocondrial indicada por las unidades de Citrato sintasa (C.S.). Las células utilizadas fueron HDF-Neo (fibroblastos de dermis de neonatos) y HCT116 (línea celular tumoral humana de cáncer de colon).

Figura 3. Consumo de oxígeno en células HCT116 incubadas con pHB durante 6 días. Se indica la capacidad respiratoria total de las células y los diferentes parámetros relacionados con la actividad mitocondrial. OCR: ratio de consumo de oxígeno (oxygen consumption rate), ECAR: ratio de acidificación extracelular (extracellular acidification rate); Oligo: oligomicina; FCCP: Carbonilcianuro-p-trifluorometoxifenilhidrazona; Rot: rotenona; Ant: antimicina A; CTRL: control.

Figura 4. Relación entre consumo de oxígeno y acidificación de las células tumorales tras el tratamiento de células HCT116 con pHB durante 6 días. OCR: ratio de consumo de oxígeno (oxygen consumption rate), ECAR: ratio de acidificación extracelular (extracellular acidification rate); Δ ECAR: Variación de la ratio de acidificación extracelular; Oligo: oligomicina; FCCP: Carbonilcianuro-p-trifluorometoxifenilhidrazona; CTRL: control.

Figura 5. Determinación del potencial mitocondrial y niveles de radicales libres de las células incubadas con pHB durante 6 días. A: potencial mitocondrial medido por la acumulación de rodamina 123 en el interior mitocondrial. B: oxidación de la rodamina reducida (dihidrorodamina 123) y acumulación en la mitocondria como medida de la producción de peróxidos de hidrógeno. C: medida de la producción de superóxido en la mitocondria mediante el compuesto MitoSox.

Figura 6. Crecimiento celular en diferentes líneas celulares incubadas con pHB 36 μ M durante 6 días (barra gris claro) y posteriormente durante 3 días más (9 días, barra gris oscuro) para monitorizar el crecimiento celular. Las células utilizadas fueron IMR90

(línea humana de fibroblastos de pulmón); HEK (células humanas embrionarias inmortalizadas de riñón), HepG2 (línea celular tumoral de hepatocarcinoma), HeLa (línea celular tumoral humana de cáncer de cérvix uterino) y HCT116 (línea celular tumoral humana de cáncer de colon).

5

Figura 7. Niveles de CoQ10 en células HEK incubadas durante 6 días con pHB, pHAc, pHPyr o pHBz (36 μ M).

EJEMPLOS

10

1. La adición de pHB incrementa significativamente la cantidad de CoQ10 en las células tumorales.

Los inventores han observado que la incubación de células tumorales con pHB durante 15 6 días provoca un cambio metabólico en ellas incrementando su actividad mitocondrial respiratoria a la vez que se revierte el efecto Warburg. Sin embargo, las células no tumorales parecen ser insensibles a este compuesto al no presentar el metabolismo tumoral, por lo que su uso terapéutico sería seguro.

20 Particularmente, la adición de este precursor al medio de cultivo incrementó significativamente la cantidad de CoQ10 en las células. Este efecto no se encontró en células no tumorales como diferentes líneas celulares de fibroblastos humanos (Figura 1).

25 Como se puede ver en la figura 1, las células HEK (células humanas embrionarias inmortalizadas de riñón), HEPG2 (células de hepatocarcinoma humano), HCT116 (células de cáncer de colon humano) y CALU3 (línea celular de cáncer de pulmón humano) aumentan los niveles de coenzima Q10 por mg de proteína tras la suplementación con el precursor del coenzima Q10, lo que indica que en estas células 30 se produce una deficiencia en la síntesis de este compuesto debido a la carencia de precursor proveniente de las rutas metabólicas dependientes de tirosina. Por otro lado, células con metabolismo oxidativo alto, como las líneas fibroblásticas HDF Neo (fibroblastos de piel embrionaria), MRC5 (fibroblastos embrionarios de pulmón) o IMR-90 (fibroblastos embrionarios de pulmón) no presentan incremento en la síntesis de 35 CoQ10 tras la suplementación con pHB.

El efecto del pHB es debido a que las células tumorales, por su alta tasa de crecimiento, utilizan los aminoácidos como la tirosina, precursor natural del pHB para actividades de síntesis proteica en lugar de para actividades de síntesis de compuestos como el
5 Coenzima Q10. Este efecto, sumado al hecho de que las mitocondrias actúan en células tumorales más con una labor de síntesis de compuestos que de metabolismo y generación de energía, hace que la adición de pHB revierta la actividad mitocondrial y regular así la capacidad proliferativa de las células tumorales.

10 Por otro lado, muchas enfermedades crónicas, esencialmente asociadas al envejecimiento y a hábitos de vida, presentan deficiencia en coenzima Q10 en células y tejidos que afecta negativamente a la actividad mitocondrial y al metabolismo en general. En estos casos, la adición de pHB o sus precursores, incrementaría la síntesis endógena de coenzima Q10 revirtiendo, al menos en parte, la disfunción mitocondrial
15 asociada a su deficiencia.

2. El incremento en los niveles de coenzima Q en las células tumorales produce un incremento en la capacidad respiratoria.

20 El incremento en los niveles de coenzima Q (CoQ10) en las células tumorales produce un incremento en la capacidad respiratoria afectando especialmente a la actividad dependiente de coenzima Q como es la actividad acoplada de complejos II + III (Figura 2). Para esta actividad se utilizaron extractos celulares de dos tipos celulares que respondían (células HCT116) y no respondían (células NDF-Neo) para determinar la
25 actividad de los complejos II-III de la cadena de transporte mitocondrial. Esta actividad se determina mediante la adición de succinato como sustrato del complejo II y la reducción de citocromo c como receptor de electrones desde el complejo III. Esta actividad acoplada depende de la cantidad de coenzima Q10 en la mitocondria.

30 El incremento en CoQ10 en las células tumorales, en este caso en las células de cáncer de colon HCT116, provoca un aumento en la actividad mitocondrial dependiente de CoQ10 como queda reflejado cuando se determina la actividad de transferencia de electrones entre el complejo II y el complejo III. Sin embargo, este aumento apenas es apreciable en células no tumorales como HDF Neo (fibroblastos humanos) en las que
35 no se observó incremento en la síntesis de coenzima Q10 tras la suplementación con

pHB (+pHB) (Fig 2).

Este incremento de actividad mitocondrial podría indicar un cambio importante en el metabolismo mitocondrial de las células tumorales y hacerlas más sensibles a la acción
5 de fármacos dirigidos a esa actividad.

3. El incremento de coenzima Q10 provocó cambios en la actividad mitocondrial de las células tumorales.

10 Con el uso de células vivas suplementadas con pHB, la actividad total respiratoria presentó cambios significativos respecto a las células control. Para ello, se utilizó la tecnología "Seahorse" que determina a la vez el consumo total de oxígeno por parte de las células como medida de la actividad total de consumo y la mitocondrial en particular
15 y también la acidificación del medio como medida de la actividad glucolítica. El sistema utiliza sensores específicos de consumo de oxígeno y de acidificación del medio en células vivas.

Pese a observar una disminución de la actividad respiratoria total de las células, el perfil de actividad de las células HCT116 suplementadas con pHB presentó cambios
20 significativos indicando un mayor equilibrio energético. Se observó una reducción de la pérdida energética debida a la pérdida de electrones, indicando una mejor impermeabilidad de la mitocondria. Así mismo, la actividad respiratoria para producir ATP disminuyó, indicando un mejor balance energético reduciendo el gasto en actividad metabólica para la producción de ATP por parte de la mitocondria. Igualmente, la
25 actividad máxima respiratoria disminuyó, pero a su vez, se incrementó levemente la capacidad de reserva, indicando que estas células están modificando su actividad mitocondrial a una más cercana a las células no tumorales en las que la actividad respiratoria presenta capacidad para responder a las necesidades de energía, mientras que las células tumorales, no presentan esa capacidad al mantener la actividad
30 respiratoria en los máximos posibles para producir sustratos. Eso se traduce en un incremento en el control respiratorio, más cercano a la actividad de una célula no tumoral (Figura 3).

El análisis paralelo de acidificación por parte de la actividad metabólica refuerza la idea
35 de que el metabolismo celular de las células HCT116 ha sido modificado por la adición

de pHB al medio. La relación entre consumo de oxígeno (OCR) y acidificación del medio (ECAR) se reduce en las células tratadas con pHB, a pesar de que la variación pH no varía (variación de ECAR) (Figura 4). Esto se debe a la disminución del consumo de oxígeno sin afectar a otros parámetros.

5

4. La incubación con pHB produce cambios en el potencial mitocondrial y en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

El estrés oxidativo y el potencial de membrana mitocondrial fueron medidos mediante citometría de flujo utilizando para ello compuestos fluorescentes específicos que indican la presencia de radicales libres que inducen estrés oxidativo (dihidrorodamina 123 para hidropéroxidos y Mitosox para anión superóxido) y rodamina 123 como marcador del potencial de membrana ya que se acumula dependiendo de la diferencia de potencial entre el interior mitocondrial y el citosol, un marcador de la estabilidad mitocondrial y de su actividad.

15

La modificación de la actividad mitocondrial por parte del pHB produce cambios en el potencial mitocondrial, esto es, la variación de protones a ambos lados de la membrana interna mitocondrial que condiciona la producción de ATP. La incubación con pHB durante 6 días incrementó el potencial mitocondrial tanto en células HeLa como en células HCT116 (Figura 5, A). Por otro lado, utilizamos dihidrorodamina 123 (Figura 5 B,) y Mitosox (Figura 5C) para determinar el estrés oxidativo producido por estas células. El incremento de CoQ10 producido por la incubación con pHB estuvo acompañado por una reducción en la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) tanto en células HeLa como en HCT.

20
25

Se puede concluir que las variaciones de CoQ10 inducidas por la incubación por pHB en células tumorales afecta a la actividad mitocondrial y que este cambio puede influir en la actividad de las células tumorales y su posible respuesta a los tratamientos quimioterápicos.

30

5. Intermediarios de la síntesis de pHB desde la tirosina producen un efecto similar al observado con pHB.

Las células HEK fueron incubadas con el ácido 4-hidroxi pirúvico (p-HPyr), 4-

35

hidroxibenzaldehido (p-HBz) y el 4-hidroxiacético (p-HAc) y con el pHB para determinar cuáles de ellos podrían ser precursores que mimetizaran el efecto observado del pHB. Tanto el p-HPyr como el p-HBz fueron capaces de incrementar los niveles de CoQ10 en estas células alcanzando los niveles obtenidos por la incubación con pHB y casi
5 duplicando los niveles de CoQ10 de estas células. Por el contrario el ácido 4-hidroxiacético, que, pese a su similitud molecular, no forma parte de la ruta de síntesis del pHB, no produjo efecto alguno (Figura 7).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



- 5 donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, para su uso como adyuvante en el tratamiento de enfermedades asociadas a deficiencia de coenzima Q10 o para el tratamiento de los efectos secundarios tras la aplicación de quimioterapia, donde los efectos secundarios son la reducción de coenzima Q10.
- 10 2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, donde R es -COOH.
- 15 3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 o 2, donde la enfermedad asociada a deficiencia de coenzima Q10 es cáncer, enfermedades cardiovasculares, Parkinson, Alzheimer, síndrome metabólico, diabetes tipo II, infección por VIH, enfermedades autoinmunes, inflamación crónica, deficiencia renal crónica, infertilidad, distrofias musculares, debilidad general o fibromialgia.
- 20 4. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde dicho compuesto de fórmula (I) está comprendido en una composición, preferiblemente una composición farmacéutica.
- 25 5. El compuesto para su uso según la reivindicación 4, en donde la composición farmacéutica además comprende un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable y/o un agente o principio activo antitumoral.
- 30 6. El compuesto para su uso según la reivindicación 5, en donde el principio activo antitumoral es doxorrubicina, trastuzumab, sunitinib, cisplatino o 5-fluorouracilo.
7. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 6, en donde el cáncer es cáncer de mama, cáncer de próstata, cáncer de colon o recto,

cáncer de pulmón, linfoma no Hodgkin y otros linfomas, melanoma, cáncer de riñón, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de páncreas, cáncer óseo, cáncer de timo, cáncer de endometrio o uterino o de cuello del útero, glioblastomas o neuroblastomas.

5

8. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en donde la concentración de dicho compuesto es de entre 100 y 5000 mg/día, preferiblemente entre 100 y 1000 mg/día.

10 9. Uso no terapéutico del compuesto de fórmula (I):



donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, para aumentar la síntesis de coenzima Q10 endógena.

15 10. Uso no terapéutico según la reivindicación 9, en donde el compuesto de fórmula (i) está comprendido en una composición nutricional o alimentaria.

11. Uso cosmético del compuesto de fórmula (I):



20 donde R es -COH, -COOH o -CH₂-CO-COOH, o de una composición cosmética que comprende el compuesto de fórmula (I).

12. Composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) y un agente o principio activo antitumoral.

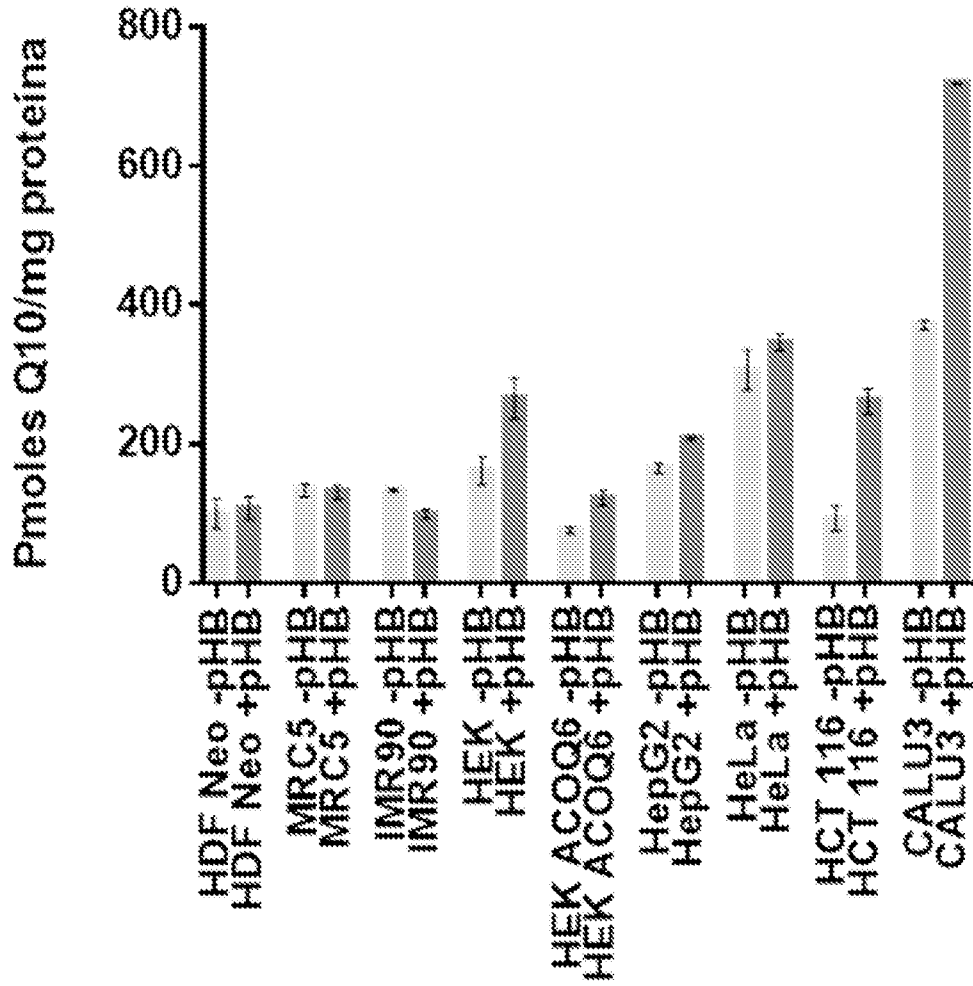


Fig. 1

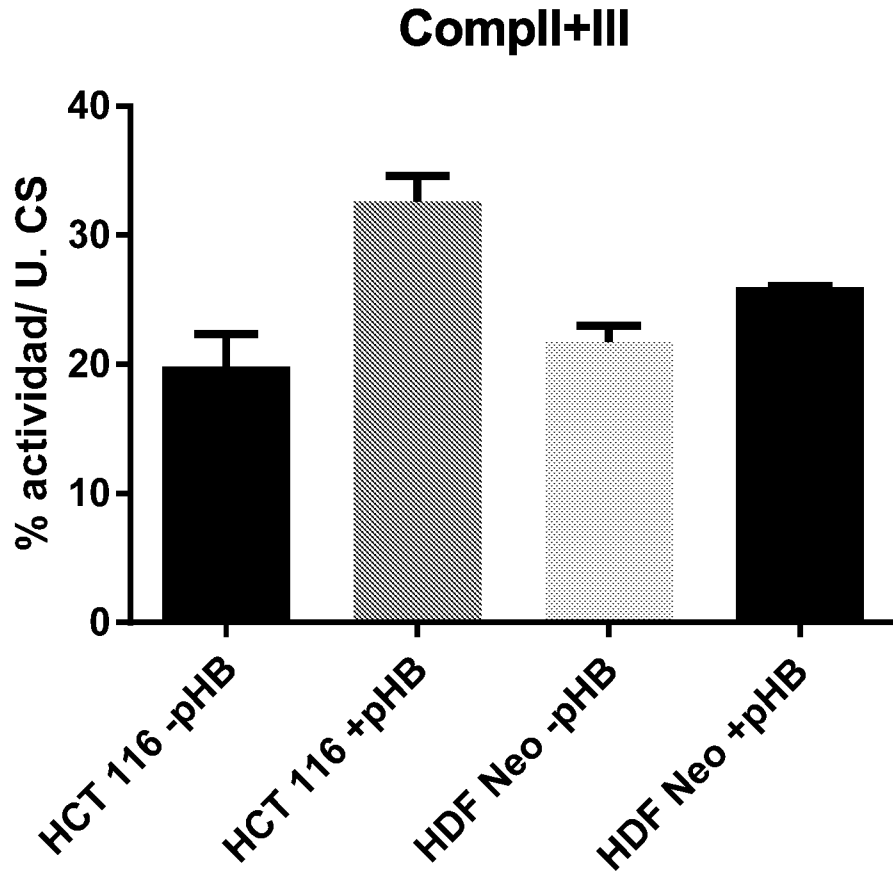


Fig. 2

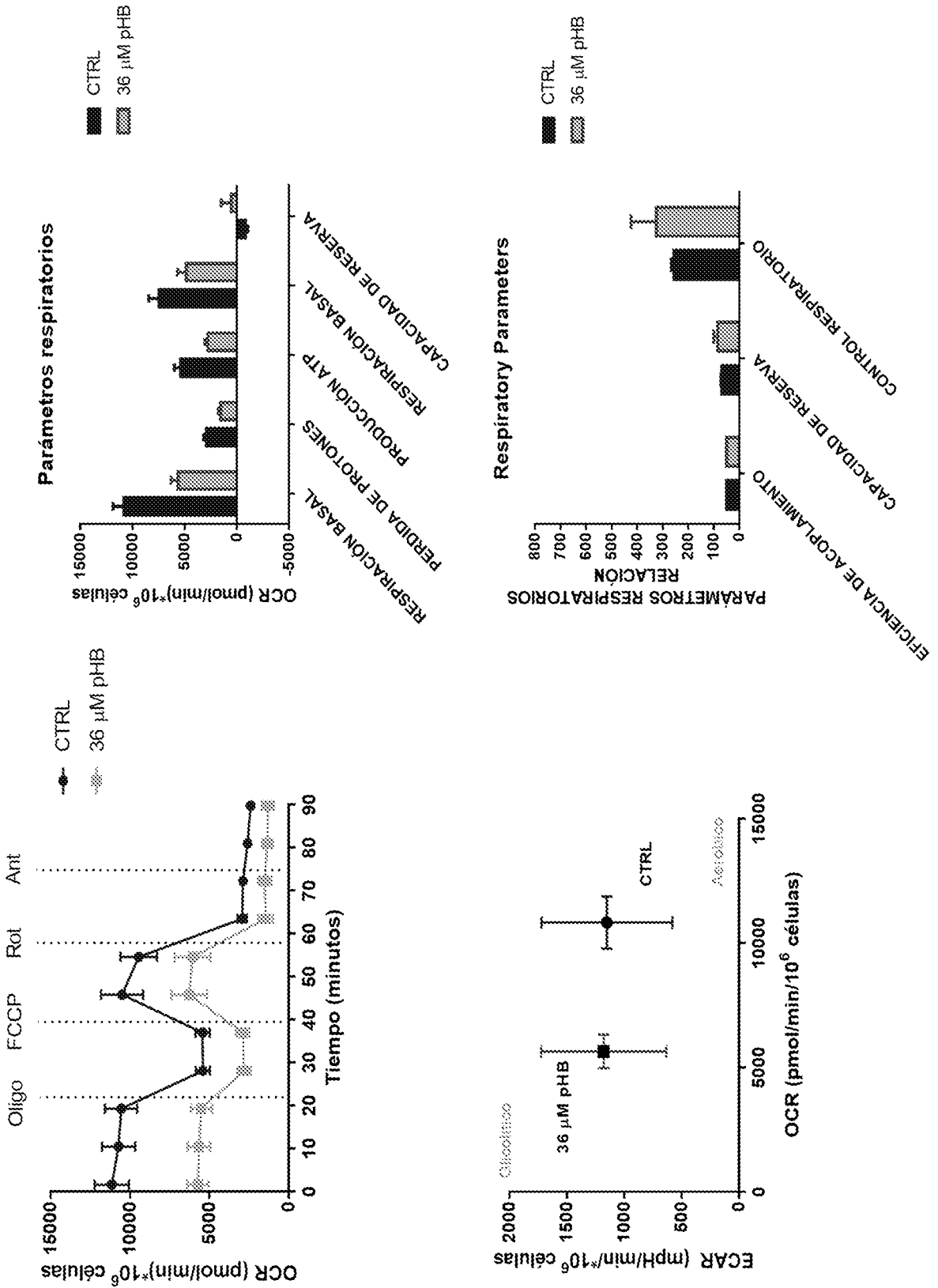


Fig. 3

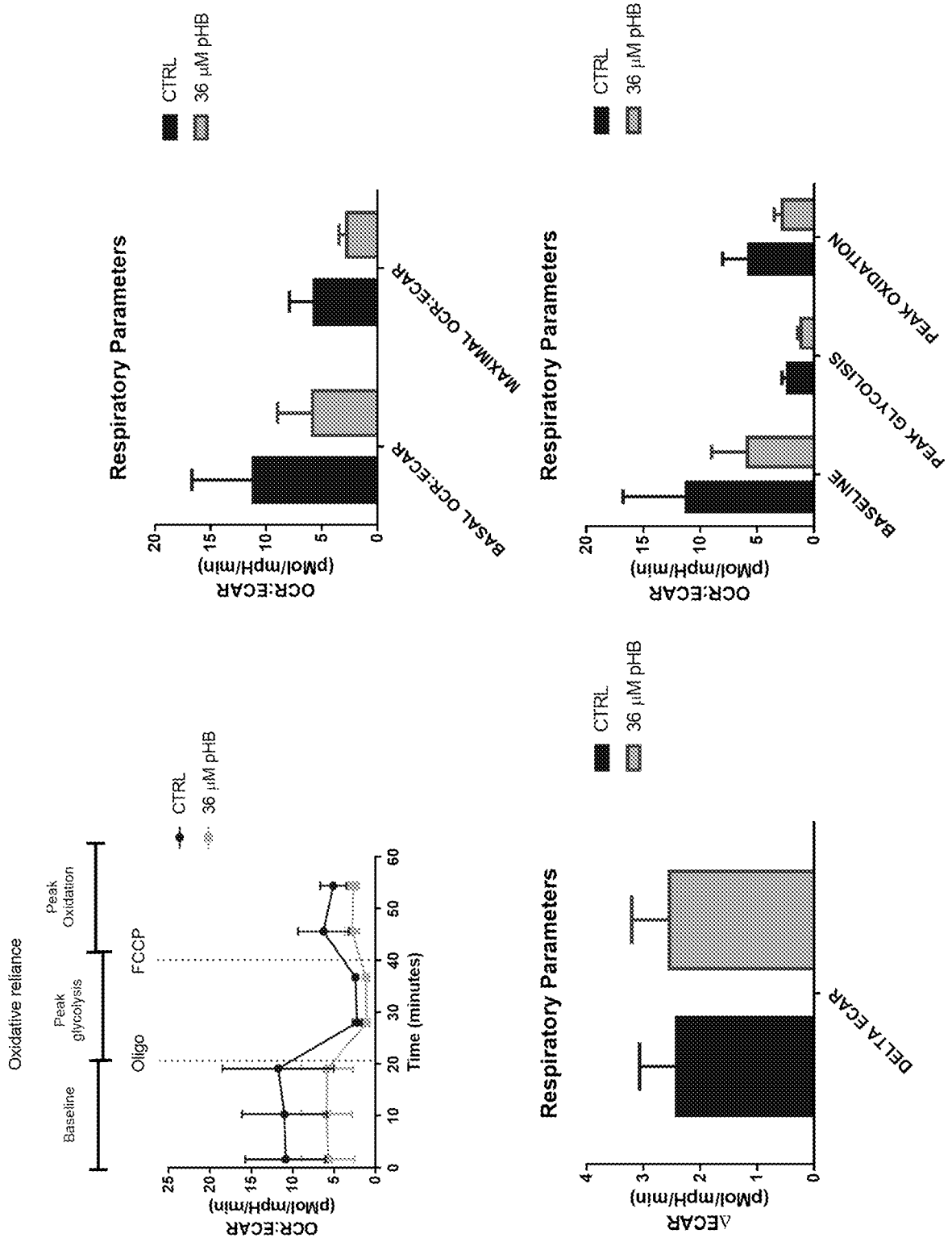


Fig. 4

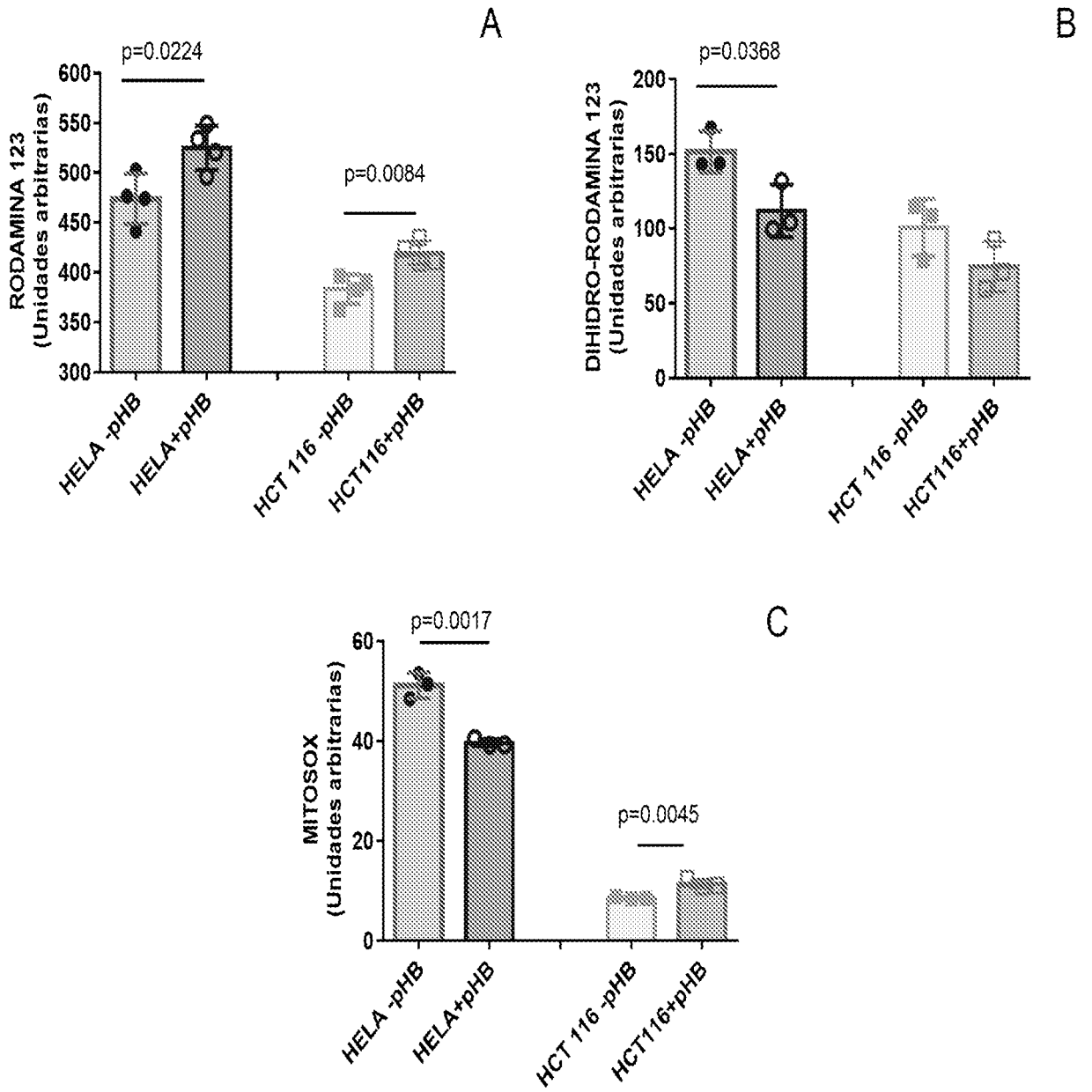


Fig. 5

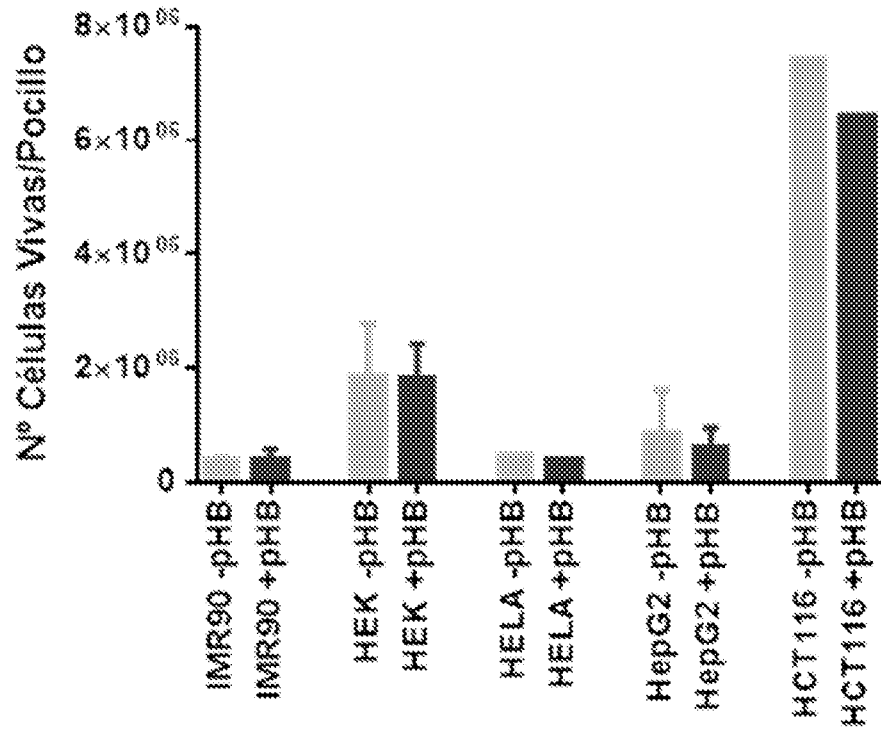


Fig. 6

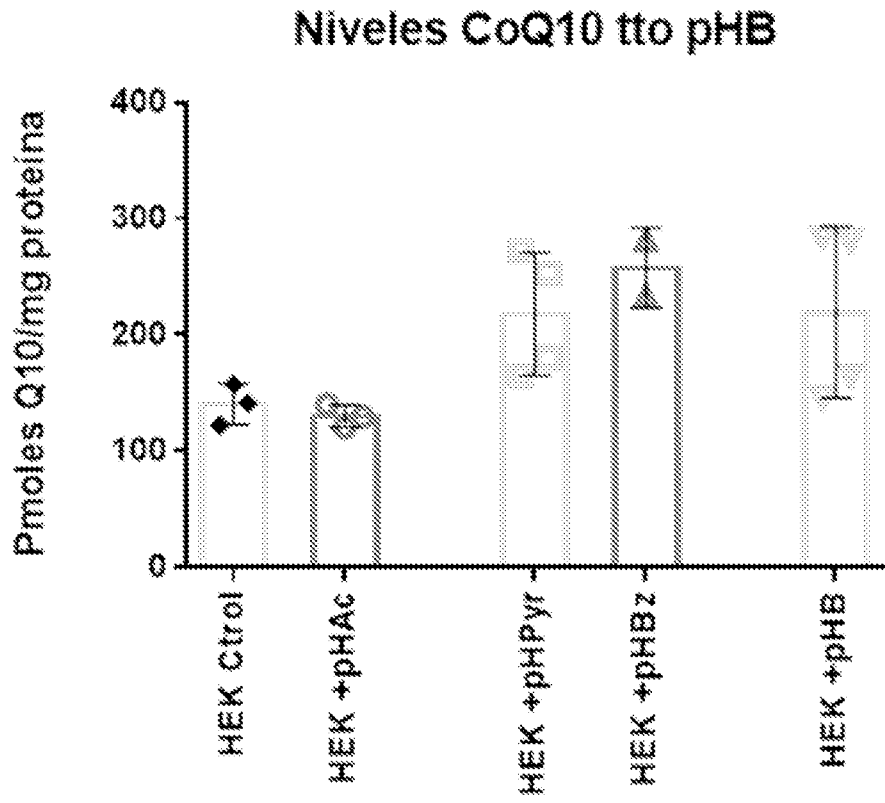


Fig. 7



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 202330630

22 Fecha de presentación de la solicitud: 24.07.2023

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. ci.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	JP H1149673 A (OKAZAKI KIMIHIKO) 23/02/1999, párrafos [0007] a [0010] , figura 1, tabla 1, reivindicación 1.	1-12
X	CN 108836955 A (UNIV YUNNAN TRADITIONAL CHINESE MEDICINE) 20/11/2018, Reivindicaciones, resumen	1-12
X	DE 19505518 A1 (LEVI INA DR) 14/08/1996, todo el documento, en especial ejemplo 4a	1-12
X	XU XIAOTIAN et al. p-Hydroxybenzoic acid alleviates inflammatory responses and intestinal mucosal damage in DSS-induced colitis by activating ER? signaling. Journal of Functional Foods, 20211108 Elsevier BV, NL. Shahidi Fereidoon, 08/11/2021, Vol. 87, ISSN 1756-4646, <DOI: doi: 10.1016/j.jff.2021.104835>. todo el documento, en especial figuras 1 a 6, página 13 "Conclusión".	1-12
A	WO 2020185184 A1 (CAGLAYAN AHMET OKAY et al.) 17/09/2020, Todo el documento, en especial reivindicaciones y resumen	1-12
A	MUZTABA M et al. COQ10: A miraculous and clinically vital coenzyme for normal body functions, prevention and treatment of diseases. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 20180501 Pharmainfo Publications ind. , 01/05/2018, Vol. 10, Páginas 976 - 982, ISSN 0975-1459 (electronic). todo el documento	1-12
A	PIERREL FABIEN. Impact of Chemical Analogs of 4-Hydroxybenzoic Acid on Coenzyme Q Biosynthesis: From Inhibition to Bypass of Coenzyme Q Deficiency. Frontiers in Physiology JUN 22 2017. , 22/06/2017, Vol. 8, Páginas Article No.: 436, ISSN 1664-042X(electronic), <DOI: doi:10.3389/fphys.2017.00436>. todo el documento	1-12
A	HERNANDEZ-CAMACHO JUAN DIEGO et al. Coenzyme Q at the Hinge of Health and Metabolic Diseases. Antioxidants NOV 2021. , 31/10/2021, Vol. 10, Páginas Article No.: 1785, ISSN 2076-3921(electronic), <DOI: doi:10.3390/antiox10111785>. todo el documento	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
12.06.2024

Examinador
E. Albarrán Gómez

Página
1/2

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K31/192 (2006.01)

A61K31/115 (2006.01)

A61P35/00 (2006.01)

A61P25/16 (2006.01)

A61P25/18 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, NPL, HCAPLUS