

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 800 327**

51 Int. Cl.:

A23L 33/175 (2006.01)
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 31/405 (2006.01)
A61K 31/4172 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.04.2009 PCT/US2009/041736**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2009 WO09132320**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.04.2009 E 09734637 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.06.2020 EP 2285218**

54 Título: **Composiciones dietéticas y métodos de protección contra la quimioterapia o radioterapia**

30 Prioridad:
24.04.2008 US 47680 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.12.2020

73 Titular/es:
**UNIVERSITY OF SOUTHERN CALIFORNIA, USC STEVENS (100.0%)
Hughes Center Suite EEB 131 3740 McClintock Avenue
Los Angeles, CA 90089-2561, US**

72 Inventor/es:
LONGO, VALTER

74 Agente/Representante:
ARIZTI ACHA, Monica

ES 2 800 327 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Composiciones dietéticas y métodos de protección contra la quimioterapia o radioterapia

5 **FINANCIACIÓN**

La presente invención se realizó con el apoyo en parte de subvenciones de los Institutos Nacionales de Salud, AG20642, AG025135, GM075308, y Plan de Neurociencias. Por lo tanto, el gobierno de los Estados Unidos tiene ciertos derechos.

10

Campo de la invención

La presente invención proporciona composiciones dietéticas para su uso en un método para proteger animales o humanos expuestos a quimioterapia o radioterapia.

15

Antecedentes de la invención

La quimioterapia moderna puede mejorar la calidad de vida de los pacientes con cáncer a través de la paliación de los síntomas relacionados con el cáncer, y también puede extender significativamente la supervivencia en muchos tumores malignos. Sin embargo, los inevitables efectos secundarios tóxicos limitan con frecuencia la intensidad de la dosis y la frecuencia de administración de fármacos. Por ejemplo, el uso de doxorubicina o cisplatino puede tratar eficazmente muchos tumores malignos, pero la cardiotoxicidad y la nefrotoxicidad inducidas por los fármacos limitan, respectivamente, todo su potencial. Por tanto, la reducción de la toxicidad no deseada mediante la protección selectiva de las células normales sin comprometer la focalización del cáncer sería beneficiosa para la quimioterapia y mejoraría el resultado clínico.

20

El documento EP0560989 desvela una preparación enteral, que puede ser ingerida oralmente, en lugar de la infusión parenteral de aminoácidos, para nutrir a los pacientes con cáncer e inhibir el crecimiento de las células cancerosas. Las preparaciones enterales desveladas en el documento EP0560989 no contienen metionina para tratar el cáncer, lo que da como resultado una marcada depresión de los niveles de metionina en las células cancerosas. En el ejemplo de prueba 2, los animales recibieron una preparación enteral durante 7 días y el tratamiento con el medicamento contra el cáncer (5-FU) se administró en los días 1 a 6. La preparación enteral se administra así 24 horas después de haber recibido el medicamento contra el cáncer o la quimioterapia, dicho fármaco se potencia en su actividad mediante la administración de la preparación enteral. Aquí hay una potenciación sinérgica de la acción inhibitoria del crecimiento tumoral del fármaco anticancerígeno.

30

35

El documento GB2029220 desvela una solución de aminoácidos para tratar pacientes que padecen cáncer. La solución de aminoácidos, que no contiene metionina, actúa para reducir las células cancerosas o suprimir los cánceres mientras mantiene el efecto de nutrir los aminoácidos contenidos en. En los dos experimentos descritos, existe una potenciación de la acción inhibitoria del crecimiento tumoral del fármaco anticancerígeno.

40

El documento EP0232652 desvela composiciones nutricionales para inhibir el desarrollo de cáncer y, más particularmente, metástasis en mamíferos. Las composiciones se complementan con homocisteína. La metionina puede estar presente en las composiciones. Sin embargo, las proteínas están presentes en las composiciones por la presencia de proteína de soja en un peso total como máximo del 1 % sobre el peso seco total de los constituyentes. En un ejemplo, las proteínas de soja están presentes y se comparan con las composiciones de control (caseína, leche en polvo) para la eficacia de la deficiencia en el contenido de metionina de las composiciones.

45

El documento EP2135604 describe una composición nutricional para pacientes con cáncer que comprende metionina en una cantidad de 0,1-5,0 g/100 g y triptófano en una cantidad de 0,02-3,0 g/100 g y L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina y L-valina. Una composición comprende de 0,1 a 3,0 g/l de L-metionina, 0,05 a 1,0 g/l de L-triptófano y L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina y L-valina. El documento EP2135604 no desvela que la composición se administra durante 3-10 días antes del tratamiento de quimioterapia. Además, el documento EP2135604 solo describe la administración periférica por infusión.

50

55

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a composiciones dietéticas para su uso en un método de protección contra animales o humanos expuestos a quimioterapia o radioterapia como se define en las reivindicaciones. El método comprende administrar una composición de la invención a un animal o humano, protegiendo así al animal o humano contra la quimioterapia o radioterapia. El método puede comprender además exponer al animal o humano a la quimioterapia o radioterapia. En algunas realizaciones, la composición se administra al animal o humano durante 3-10 días consecutivos antes de la etapa de exposición, 24 horas después de la etapa de exposición, o una combinación de los mismos. En algunas realizaciones, la composición se administra cada tres comidas o cada 3-10 días para proteger al

60

animal o al ser humano del envejecimiento.

Las características mencionadas anteriormente y otras de la presente invención y la forma de obtenerlas y usarlas serán más evidentes, y se entenderán mejor por referencia a la siguiente descripción, tenidas en cuenta junto con los dibujos adjuntos. Los dibujos representan solo realizaciones convencionales de la invención y, por lo tanto, no limitan su alcance.

Breve descripción de las Figuras

10 Figura 1. Gráfico de (A) % de supervivencia, (B) peso corporal de la dieta de metionina %, (C) ingesta de alimento de metionina, (D) de peso corporal posterior al tratamiento %, y (E) ingesta de alimento posterior al tratamiento en función de los días. Los ratones fueron tratados con una mezcla de aminoácidos con bajo contenido de metionina (LMAI) antes del tratamiento con doxorubicina.

15 Figura 2. Gráfico de (A) % de supervivencia, (B) peso corporal posterior al tratamiento %, y (C) peso corporal de dieta de triptófano % en función de días. Los ratones fueron tratados con una mezcla de aminoácidos con bajo contenido de triptófano (LTAI) antes del tratamiento con doxorubicina.

Descripción detallada de la invención

20 La presente invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento inesperado de que las composiciones dietéticas que comprenden un nivel reducido de metionina, triptófano, todos los aminoácidos, o proteínas, pueden usarse para proteger a los sujetos contra la quimioterapia o la radioterapia.

25 Más específicamente, una composición dietética de la invención contiene del 0,05 - 0,2% (por ejemplo, 0,02 %, 0,05 %, 0,1 %, o 0,15 %) en peso de L-metionina y al menos 0,05 % (por ejemplo, 0,1 %, 0,5 %, 1 %, o 2 %) en peso de cada uno de L-triptófano, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina y L-valina, pero sin proteínas. En algunas realizaciones, la composición también contiene uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina, por ejemplo, cada uno en la cantidad de al menos 0,05 % (por ejemplo, 0,1 %, 0,5 %, 1 % o 2 %) en peso. En algunas realizaciones, la composición contiene una cantidad normal de cada uno de L-triptófano, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina, L-valina, L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina.

35 Una segunda composición dietética de la invención contiene del 0-0,2 % (por ejemplo, 0,02 %, 0,05 %, 0,1 %, o 0,15 %) en peso de L-triptófano y al menos 0,05 % (por ejemplo, 0,1 %, 0,5 %, 1 %, o 2 %) en peso de cada uno de L-metionina, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina, L-valina, pero sin proteínas. En algunas realizaciones, la composición también contiene uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina, por ejemplo, cada uno en la cantidad de al menos 0,05 % (por ejemplo, 0,1 %, 0,5 %, 1 % o 2 %) en peso. En algunas realizaciones, la composición contiene una cantidad normal de cada uno de L-metionina, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina, L-valina, L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina.

45 Una tercera composición dietética de la invención contiene L-metionina, L-triptófano, L-isoleucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina, L-valina, L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspártico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina, cada uno en la cantidad del 0-0,2 % (por ejemplo, 0,02 %, 0,05 %, 0,1 %, o 0,15 %) en peso, pero sin proteínas.

50 Se puede usar una composición dietética de la invención para proteger a un animal o humano contra la quimioterapia o la radioterapia. Más específicamente, un animal o humano puede ser alimentado con una composición dietética de la invención. Cuando el animal o humano está expuesto a la quimioterapia o la radioterapia las células normales, pero no las células anormales como las células cancerosas, en el animal o humano están protegidas. Por ejemplo, la composición puede administrarse al animal o humano durante 3-10 días consecutivos antes de que el animal o humano sea expuesto a quimioterapia o radioterapia. La composición también se puede administrar al animal o humano durante 55 24 horas después de la exposición. Preferentemente, la composición puede administrarse al animal o humano para baño 3-10 días consecutivos antes de que el animal o humano sea expuesto a quimioterapia o radioterapia y 24 horas después de la exposición. Para la protección de un animal o humano contra el envejecimiento, la composición puede administrarse cada tercera comida o cada 3-10 días.

60 Los ejemplos de quimioterapia incluyen, pero no están limitados a, etopósido, doxorubicina, cisplatino, 5-FU, gemcitabina, ciclofosfamida, docetaxel, ciclofosfamida, carboplatino, GMZ y paclitaxel. Estos medicamentos pueden usarse individualmente o en combinación.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar el alcance de la invención. Si bien estos ejemplos son normales de los que

podrían usarse, otros procedimientos conocidos por los expertos en la técnica pueden utilizarse alternativamente. De hecho, los expertos en la materia pueden imaginar fácilmente y producir realizaciones adicionales, basándose en las enseñanzas del presente documento, sin experimentación indebida.

5 EJEMPLO I

Las estrategias para tratar el cáncer se han centrado principalmente en aumentar la toxicidad para las células tumorales. El inventor se ha apartado del clásico desarrollo de fármacos de tumor céntrico centrado en la muerte del tumor y se centró en aumentar la protección de las células normales. Recientemente, el inventor informó que una inanición a corto plazo (STS; 40-60 horas) puede mejorar la resistencia del huésped a la quimioterapia al tiempo que mejora la sensibilidad del tumor a la apoptosis inducida por la quimioterapia (resistencia al estrés diferencial, DSR) (1). La base de STS proviene del trabajo del Dr. Longo en el campo del envejecimiento, en el que la supresión del factor de crecimiento y la restricción calórica (CR) aumentan la vida útil y la resistencia al estrés en varios organismos. Sin embargo, aunque una STS es un método poderoso para proteger diferencialmente el huésped, podría tener una aplicación limitada en entornos clínicos. Por lo tanto, el inventor investigó intervenciones farmacéuticas alternativas que también podrían mejorar la resistencia más rápida contra la quimioterapia. Durante la búsqueda, el inventor determinó 3 preparaciones prometedoras que proporcionaron una mayor protección al huésped contra los medicamentos de quimioterapia. Las preparaciones farmacéuticas que fueron efectivas para mejorar la resistencia contra la quimioterapia fueron **1)** una mezcla de aminoácidos con restricción de metionina (LMAI), **2)** una mezcla de aminoácidos restringidos con triptófano (LTAI) y **3)** glicerol (G1). LMA1 es efectivo solo si la dieta carece de otras fuentes de metionina y LTA1 es efectiva solo si la dieta carece de otras fuentes de triptófano. Por último, G1 es efectivo en combinación con una dieta restringida en glucosa. Curiosamente, a pesar de que las dietas eran isocalóricas y la ingesta de alimento era similar, los animales tratados con LMAI/LTAI mostraron un perfil de peso más bajo. Esto sugiere que LMAI/LTAI permite a los animales desplazar la energía hacia el "mantenimiento" en lugar de "crecimiento/reproducción", y por lo tanto aumenta la resistencia contra la toxicidad de la quimioterapia.

Mezcla LMAI

Se ha demostrado que la restricción de metionina aumenta la vida útil y la resistencia al estrés en roedores de laboratorio (2, 3). Por lo tanto, se investigó el efecto de una mezcla de aminoácidos con bajo contenido de metionina (LMAI) en ausencia de proteínas en la dieta para proteger contra la toxicidad de la quimioterapia en roedores de laboratorio. 5 días antes de la quimioterapia, ocho ratones recibieron la mezcla LMAI en combinación con una dieta libre de proteínas (Harlan, TD. 07789). Los niveles de metionina en la mezcla LMA1 fueron el 20 % de la dieta de control (TD. 07788). Después de la dieta LMA1 de 5 días, los ratones fueron inyectados por vía intravenosa con una dosis alta de doxorubicina (DXR, un medicamento de quimioterapia ampliamente utilizado). Para determinar el grado de toxicidad, los ratones fueron monitoreados diariamente para detectar pérdida de peso y comportamiento anormal. El peso corporal y la ingesta de alimento se registraron diariamente. Los ratones tratados con LMA1 se recuperaron de la pérdida de peso más rápidamente en comparación con el grupo de control (Figura 1). Así mismo, los ratones tratados con LMAI mostraron una tasa de supervivencia significativamente más alta en comparación con el control m1ce después de la quimioterapia de dosis alta (63 % frente al 13 %, respectivamente) (Figura 1).

Mezcla LTAI

Al igual que con la restricción de metionina, También se ha demostrado que una dieta con bajos niveles de triptófano aumenta la esperanza de vida y disminuye algunas enfermedades relacionadas con la edad, incluido el cáncer (4-7). Basándose en el hecho de que existe una fuerte correlación entre la longevidad y la resistencia al estrés, los inventores creían que el tratamiento de ratones con una mezcla baja de aminoácidos de triptófano en ausencia de otras fuentes de triptófano también podría proporcionar una mayor resistencia al estrés además de la extensión de la vida útil. 10 días antes de la quimioterapia, ocho ratones fueron tratados con la mezcla LTA1 en combinación con una dieta que carecía de proteínas (Harlan, TD. 07790). Los niveles de triptófano en la mezcla LTA1 fueron del 20 % de la dieta de control (TD. 07788). La toxicidad se determinó como clon con los experimentos de mezcla LMA1. La mezcla LTA1 mejoró el control de peso después de la quimioterapia, causando una recuperación más rápida de la pérdida de peso en comparación con los controles (Figura 2). También, los ratones tratados con la mezcla LTAI tuvieron una tasa de supervivencia 4 veces mayor en comparación con los controles (50 % frente al 12,5 %) (Figura 2).

MATERIALES Y MÉTODOS

LMA1 y LTAI

LMA1 y LTA1 se basan en mezclas de aminoácidos sintéticos purificados (1) y Harlan Tekald nos los fabricó a medida para nosotros en forma de gránulos de 284,48 cm (112"). Todos los grupos, incluido el Control (TD. 07788), LMA1 (TD. 07790) y LTA1 (TD. 07789) recibieron dietas isocalóricas (3,9 KcaVg).

Mezcla LMA1: Ratones CD-1, con un peso de 25-30 g, se preadministraron durante 5 días antes de la quimioterapia

con mezclas de aminoácidos sintéticos purificados que contenían niveles normales (0,86 %) o bajos (0,17 %) de metionina.

5 Mezcla LTA1: Ratones CD-1, con un peso de 25-30 g, se preadministraron durante 5 días antes de la quimioterapia con mezclas de aminoácidos sintéticos purificados que contenían niveles normales (0,86 %) o bajos (0,17 %) de triptófano.

Tabla 1. Composición de la dieta de control

Fórmula	g/Kg
L-alanina	3,5
L-Arginina HCl	12,1
L-asparagina	6,0
Ácido L-aspártico	3,5
L-cistina	3,5
Ácido L-glutámico	40,0
Glicina	23,3
Monohidrato de L-histidina HCl	4,5
L-iso-leucina	8,2
L-leucina	11,1
L-lisina HCl	18,0
L-metionina	8,6
L-fenilalanina	7,5
L-prolina	3,5
L-serina	3,5
L-treonina	8,2
L-triptófano	1,8
L-tirosina	5,0
Sacarasa	344,53
Maicena	150,0
Maltodextrina	150,0
Aceite de soja	80,0
Celulosa	30,0
Mezcla mineral, AIN-93M-MX (94049)	35,0
Monohidrato de Fosfato de calcio monobásico	8,2
Mezcla de vitaminas, AIN-93-VX (94047)	19,5
Bitartrato de colina	2,75
Antioxidante, TBHQ	0,02

10 Estudios de doxorubicina en ratones

Después de los tratamientos con LMA1 o LTA1, los ratones fueron inyectados por vía intravenosa con 24-26 mg/kg de doxorubicina (Bedford Laboratories) con jeringas de insulina de calibre 30 (Becton, Dickinson y compañía). La doxorubicina se disolvió en agua purificada y se diluyó en solución salina hasta una concentración final de 5 mg/ml.

15 Todas las inyecciones de doxorubicina fueron seguidas por un lavado con solución salina/heparina para minimizar el daño de las células endoteliales. Para determinar la toxicidad y la eficacia, los ratones fueron monitoreados rutinariamente para la pérdida de peso y el comportamiento general. El peso corporal se registró una vez al día durante todo el experimento. Los ratones encontrados moribundos fueron sacrificados por narcosis CO₂ y se realizó una necropsia. Puesto que la cardiotoxicidad es la principal causa de muerte por toxicidad aguda de doxorubicina,

20 preparamos cortes histológicos para examinar el grado de daño a nivel de tejido.

Referencias

1. Raffaghello L, Lee C, Safdie FM, Wei M, Madia F, Bianchi G, & Longo VD (2008) Proc Natl Acad Sei USA.
- 25 2. Miller RA, Buehner G, Chang Y, Harper JM, Sigler R, & Smith-Wheelock M (2005) Aging Cell 4, 119-125.
3. Orentreich N, Matias JR, DeFelice A, Y Zimmerman JA (1993) J Nutr 123, 269-274.
4. Ooka H, Segall PE, Y Timiras PS (1988) Mech Aging Dev 43, 79-98.
5. Segall PE y Timiras PS (1976) Mech Aging Dev 5, 109-124.
6. Timiras PS, Hudson DB, & Segall PE (1984) Neurobiol Aging 5, 235-242.
- 30 7. Anisimov VN (2001) Exp Gerontol 36, 1101-1136.
8. Masoro EJ (2005) Mech Aging Dev 126, 913-922.
9. Kennedy BK, Steffen KK, & Kaeberlein M (2007) Cell Mol Life Sei 64, 1323-1328.
10. Matsubara M, Yamagami K, Kitazawa Y, Kawamoto K, & Tanaka T (1996) Arch Toxicol 70, 514-518.
- 35 11. Migliaccio E, Giorgio M, Mele S, Pelicci G, Reboldi P, Pandolfi. PP, Lanfrancone L, & Pelicci PG (1999) Nature 402, 309-313.

12. Rogers QR y Harper AE (1965) JNutr 87, 267-273.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición dietética para su uso en un método de protección de un animal o humano contra la quimioterapia o radioterapia, incluida la administración de la composición dietética que comprende:
- 0,05-0,2 % (en peso) de L-metionina;
L-triptófano, L-iso-leucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina y L-valina
en la cantidad de al menos 0,05 % (en peso) cada uno;
- 10 y
sin proteínas,
administrándose la composición a un animal o humano durante 3-10 días consecutivos antes de que el animal o humano se expongan a quimioterapia o radioterapia.
- 15 2. La composición dietética para el uso de la reivindicación 1, que comprende además uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspartico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-glutamina, L-glicina, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina.
- 20 3. La composición dietética para el uso de la reivindicación 1, en la que la composición se administra adicionalmente al animal o humano durante 24 horas después de que el animal o humano esté expuesto a quimioterapia o radioterapia.
- 25 4. Una composición dietética para su uso en un método de protección de un animal o humano contra la quimioterapia o radioterapia, incluida la administración de la composición dietética que comprende:
- 0-0,2 % (en peso) de L-triptófano; L-metionina, L-iso-leucina, L-leucina, L-lisina, L-fenilalanina, L-treonina y L-valina,
en la cantidad de al menos 0,05 % (en peso) cada uno; y
sin proteínas,
- 30 comprendiendo el método administrar la composición a un animal o humano durante 3-10 días consecutivos antes de que el animal o humano esté expuesto a quimioterapia o radioterapia.
- 35 5. La composición dietética para el uso de acuerdo con la reivindicación 4, en la que la composición dietética administrada comprende además uno o más aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en L-alanina, L-asparagina, ácido L-aspartico, L-cisteína, ácido L-glutamático, L-prolina, L-serina, L-tirosina, L-arginina y L-histidina.
6. La composición dietética para el uso de la reivindicación 5, en la que la composición dietética se administra adicionalmente al animal o humano durante 24 horas después de que el animal o humano se expone a quimioterapia o radioterapia.

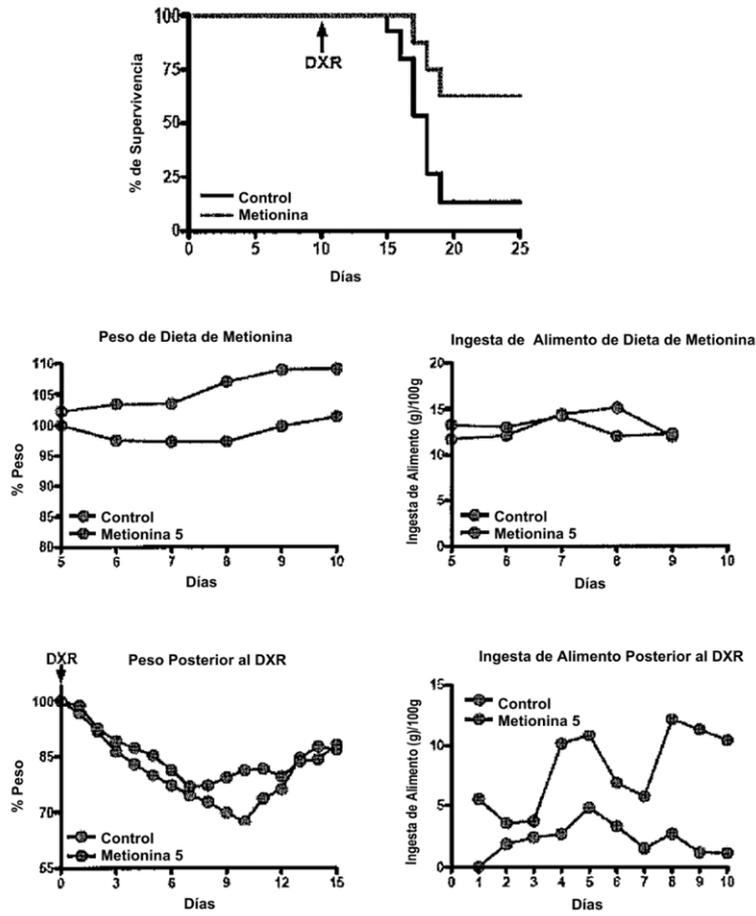


Figura 1

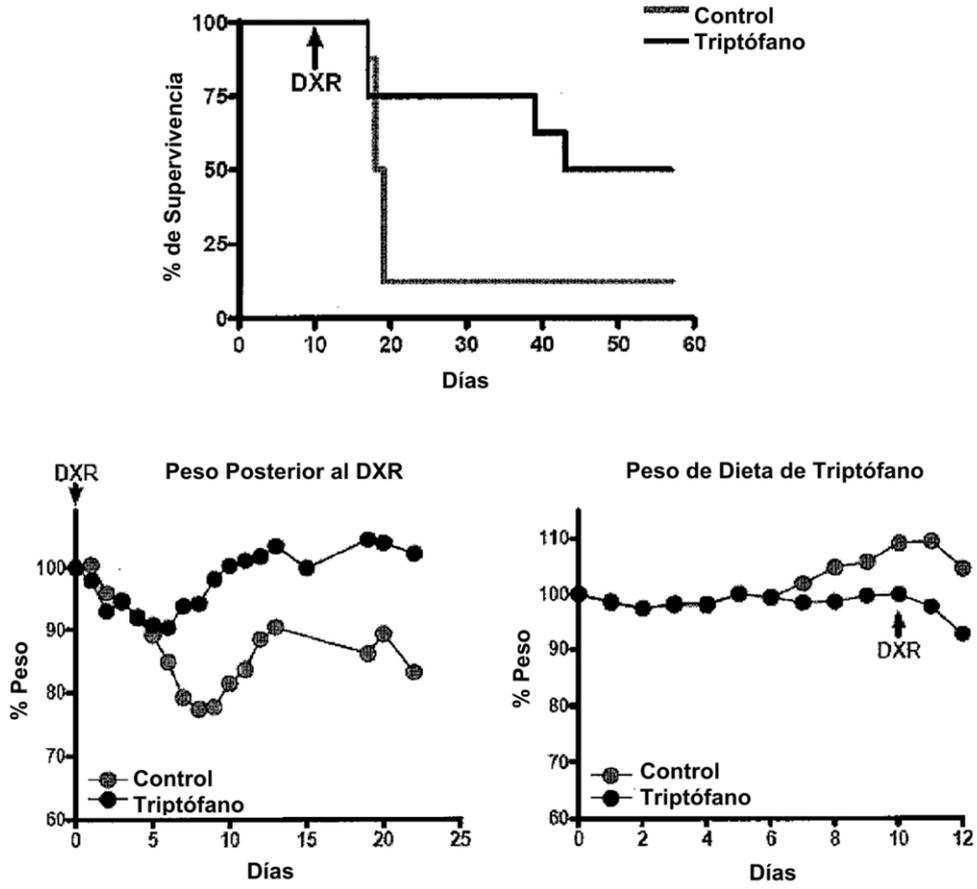


Figura 2