

Tratamiento de Fibromas con Vitamina D y un Agente tal como Galato de Epigallocatequina (EGCG)

Campo de la invención

5

La presente invención se refiere al uso de vitamina D y uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: galato de epigallocatequina (EGCG), catequina, galocatequina y galato de epicatequina (ECG), para la prevención, control y/o tratamiento
10 de fibromas en un sujeto.

Antecedentes de la invención

Los fibromas uterinos, también conocidos como liomiomas o
15 miomas uterinos, son los tumores más comunes del aparato genital femenino. Son tumores monoclonales benignos del músculo liso uterino, que se originan por tanto en el miometrio, que se desarrollan en mujeres en edad fértil, principalmente entre las edades de 35 y 50 años. Los fibromas uterinos son tumores
20 dependientes de estrógenos bien conocidos en el útero de mujeres premenopáusicas. Un rasgo característico del liomioma uterino es el depósito excesivo de matriz extracelular (MEC) [Malik M, et al. Matrix Biol 2012, 7-8:389-397]. Los componentes de la MEC que contribuyen a la mayoría del volumen
25 en los fibromas uterinos son la fibronectina, el colágeno y el proteoglucano [Ingber D y Folkman J. J Cell Biol 1989, 109:317-330]. Al igual que con otros tejidos del cuerpo, la acción de la MEC en los fibromas uterinos estimula la adherencia celular, la migración celular, la proliferación celular y la
30 diferenciación celular y promueve un mayor depósito de MEC [Ingber D y Folkman J. J Cell Biol 1989, 109:317-330]. La MEC en el tejido uterino, ya sea en miometrio normal o en un

fibroma, contiene una cantidad sustancial de colágeno. El exceso de MEC en los fibromas uterinos se debe tanto a una sobreproducción de colágeno como a una disminución en la descomposición del colágeno, y el depósito de colágeno es una mayor proporción de la composición de la MEC en los fibromas uterinos en comparación con el tejido uterino sano [Leppert PC, et al. Fertil Steril 2004, 82:1182-1187]. El incremento del depósito de colágeno y fibronectina es en parte responsable de los cambios en las características físicas del tejido del liomioma en comparación con el de un miometrio sano. La orientación y organización del colágeno en la matriz intersticial de los fibromas uterinos es anormal, formando su característica rígida [Tomasek JJ, et al. Nat Rev Mol Cell Biol 2002, 3:349-363]. Las células del músculo liso del miometrio podrían reaccionar a las lesiones con la síntesis de matriz fibrosa extracelular.

Los fibromas uterinos a menudo se desarrollan de forma asintomática. También pueden estar asociados con diferentes síntomas, tales como: sangrado menstrual excesivo (menorragia), dismenorrea y sangrado intermenstrual, dolor ginecológico crónico, compresión de los órganos circundantes, relaciones sexuales dolorosas, anemia y síntomas de presión, tales como sensación de hinchazón, incremento de la frecuencia urinaria y alteración intestinal. Además, pueden poner en peligro las funciones reproductivas, posiblemente contribuyendo a la subfertilidad, aborto espontáneo, complicaciones posteriores del embarazo, infertilidad, aborto recurrente, parto prematuro.

El efecto de los fibromas uterinos en la calidad de vida y el coste general del tratamiento son preocupaciones importantes en todo el mundo.

5 Otras afecciones de fibromas incluyen fibroadenoma e hiperplasia prostática.

El fibroadenoma, que es un tumor de mama humano benigno, se caracteriza por la proliferación de componentes del estroma
10 epitelial y fibroblástico de la unidad ductal terminal.

La hiperplasia prostática, también conocida como hiperplasia prostática benigna (HPB), agrandamiento prostático o liomioma prostático, es un crecimiento no canceroso en el tamaño de la
15 glándula prostática con un incremento de colágeno fibrilar o depósito de matriz extracelular.

Por lo tanto, todavía existe la necesidad de proporcionar un tratamiento no invasivo y eficaz para los fibromas.

20

EGCG

El galato de epigallocatequina (EGCG) es un éster de epigallocatequina y ácido gálico, extraído del té verde. Su
25 efecto en oncología ha sido estudiado a fondo y ha presentado efectos beneficiosos. El EGCG inhibe la proliferación, induce apoptosis en células de fibromas uterinos humanos y reduce el volumen de tumores de fibromas uterinos en ratones [Zhang, D.
et al., Am. J. Obstet. Gynecol. 2010, 202, 289.e1-289.e9]. Un
30 estudio clínico mostró una reducción del 32,6 % en el volumen total de los fibromas en mujeres con fibromas uterinos después del tratamiento con EGCG [E. Roshdy *et al.*, Int. J. Women's

Health, 2013:5 477-486]. En esos estudios, el EGCG fue un agente de modulación en la proliferación, transformación e inflamación en los tumores de fibromas uterinos. El EGCG ejerce su acción posiblemente modulando diferentes factores que intervienen en la proliferación, la regulación del ciclo celular y la apoptosis, tales como el antígeno nuclear de células en proliferación (ANCP), la cinasa dependiente de ciclina 1 (CDK1) y el linfoma de linfocitos B 2 (LLB-2).

10 Vitaminas D

Las vitaminas D son un grupo de secosteroides liposolubles que ejercen diferentes actividades biológicas. Su papel en el incremento de la absorción intestinal de calcio, magnesio y fosfato es bien conocido. De hecho, las vitaminas D modifican la actividad de las células óseas y son importantes para la formación de hueso nuevo en niños y adultos. Las vitaminas D se producen principalmente en la piel a partir de la luz solar y aproximadamente el 10 % también se absorbe de la ingesta de alimentos. El hígado y los riñones convierten las vitaminas D en la hormona activa, que se llama calcitriol.

Se ha demostrado que la 1,25-dihidroxit vitamina D inhibe la proliferación celular de fibromas uterinos *in vitro* y disminuye el tamaño de los fibromas uterinos en modelos animales. La vitamina D (vitamina D₃) reduce la proliferación celular de fibromas uterinos *in vitro* y el crecimiento tumoral de fibromas uterinos en modelos animales *in vivo*. De acuerdo con los experimentos *in vitro*, las células de fibromas uterinos son muy sensibles al efecto inhibidor del crecimiento de la forma activa de la vitamina D. La vitamina D regula la proliferación celular y la inducción de la apoptosis a través de la regulación

por disminución del antígeno nuclear de células en proliferación (ANCP) y la cinasa dependiente de ciclina 1 (CDK1).

5 La deficiencia de vitamina D se asocia con un riesgo incrementado de fibromas uterinos y, en particular, existe una relación inversa entre los niveles séricos de vitamina D y la gravedad de los fibromas.

10 Sumario de la invención

Sorprendentemente, el autor descubrió que el uso de vitamina D en combinación con al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en: galato de epigallocatequina (EGCG), catequina,
15 galocatequina y galato de epicatequina (ECG) tiene fuertes efectos inhibitorios sobre la liberación de fibronectina y colágeno en células fibroblastos *in vitro*. Una combinación de vitamina D y dicho al menos un agente ejerce una acción sinérgica, reduciendo la proliferación de componentes
20 fibróticos y, a continuación, reduciendo el depósito excesivo de matriz extracelular común en los fibromas. La eficacia incrementada de la vitamina D en combinación con dicho al menos un agente tiene un efecto importante en la reducción de la proliferación de componentes fibróticos en comparación con el
25 efecto único de la vitamina D sola o con dicho al menos un agente solo.

En otras palabras, el autor ha descubierto sorprendentemente que la administración de una combinación o asociación de
30 vitamina D y al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en: EGCG, catequina, galocatequina y ECG ejerce efectos más ventajosos que los de componentes individuales para

tratar células fibroblastos. Hasta ahora, se sabía que la administración de Vitamina D o bien EGCG se podía usar para tratar los fibromas uterinos, pero no se sabía ni sugería que dichos compuestos juntos podían ser más ventajosos en el tratamiento de esta afección de fibromas. Las pruebas de la reducción del volumen de fibroma representa un efecto absolutamente novedoso que se puede obtener de forma ventajosa usando vitamina D y al menos un agente seleccionado del grupo que consiste en: EGCG, catequina, galocatequina y ECG.

10

Por lo tanto, es un objetivo de la presente invención la vitamina D y uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: galato de epigalocatequina (EGCG), catequina, galocatequina y galato de epicatequina (ECG), para su uso en la prevención, control y/o tratamiento de un fibroma. Preferentemente, dicho uno o más agentes se seleccionan del grupo que consiste en: epigalocatequina-3-galato, (-)-epigalocatequina-3-galato, (-)-galocatequina-3-O-galato (GCG), (-)-galocatequina-3-galato, (+)-catequina (C), (-)-epicatequina (EC), (+)-galocatequina (GC), (-)-epigalocatequina (EGC), (-)-epicatequina-3-galato, (-)-catequina-3-galato y (+)-catequina-3-galato. Preferentemente, dicho uno o más agentes es galato de epigalocatequina (EGCG). Preferentemente, dicha vitamina D se selecciona del grupo que consiste en: vitamina D₃ (colecalfiferol), vitamina D₂ (ergocalciferol), 25(OH)vitamina D (calcidol), 1,25 dihidroxi-vitamina D (calcitriol) y combinaciones de las mismas. Preferentemente, la vitamina D se refiere a la vitamina D₃.

30

Preferentemente, dicho fibroma está en un tejido que contiene fibroblastos. Preferentemente, dicho fibroma es un fibroma

uterino, un fibroadenoma o una hiperplasia de próstata. Preferentemente, dicho fibroma es un fibroma uterino. Preferentemente, dicho fibroma uterino es intraparietal, subseroso y/o submucoso.

5

Preferentemente, la vitamina D está en una cantidad de aproximadamente 1 µg a 100 µg al día. Preferentemente, la vitamina D está en una cantidad de aproximadamente 25 µg a 50 µg al día, preferentemente de aproximadamente 50 µg por día.

10 Preferentemente, la vitamina D se administra dos veces al día, siendo cada administración de aproximadamente 25 µg. Preferentemente, 1 UI de vitamina D corresponde a 0,025 µg de vitamina D, de modo que la vitamina D esté en una cantidad de aproximadamente 40 UI a 4000 UI.

15

Preferentemente, dicho uno o más agentes están en una cantidad de aproximadamente 5 mg a 1000 mg al día. Preferentemente, dicho uno o más agentes están en una cantidad de aproximadamente 300 mg al día. Preferentemente, dicho uno o
20 más agentes se administran dos veces al día, siendo cada administración de aproximadamente 120 mg a 180 mg, preferentemente de aproximadamente 150 mg. Se debe entender que, cuando están presentes más agentes, las cantidades del uno o más agentes se pueden referir a las de cada agente o a
25 la suma de todos los agentes presentes.

Preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más agentes están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 50 a 1: 1.000.000. Preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más
30 agentes están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 100 a 1: 1000, preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más agentes están en una proporción en peso de aproximadamente

1: 300 a 1: 600. Preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más agentes están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 6000, 1: 50, 1: 2000, 1: 2500, 1: 3000, 1: 5000, 1: 7000, 1: 10.000 o 1: 1.000.000. Se debe entender que, cuando hay más
 5 agentes presentes, las partes en peso del uno o más agentes se pueden referir a las de cada agente o a la suma de todos los agentes presentes.

En un aspecto preferente, la vitamina D y el uno o más agentes,
 10 como se define anteriormente, son para su uso con al menos un agente adicional, opcionalmente seleccionado del grupo que consiste en: vitamina B, un polifenol y DL-alfa-tocoferol, preferentemente, dicho al menos un agente adicional es vitamina B₆. A continuación, la presente invención también proporciona
 15 vitamina D, el uno o más agentes, como se define anteriormente, y al menos un agente adicional opcionalmente seleccionado del grupo que consiste en: vitamina B, un polifenol y DL-alfa-tocoferol, preferentemente, dicho al menos un agente adicional es vitamina B₆, para su uso como se define anteriormente.

20

Preferentemente, la vitamina D, dicho uno o más agentes y dicho al menos un agente adicional están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 5000: 100 a 1: 10.000: 1000. Preferentemente, la vitamina D, dicho uno o más agentes y dicho
 25 al menos un agente adicional están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 5000: 1000 a 1: 10.000: 100. Preferentemente, la vitamina D, dicho uno o más agentes y dicho al menos un agente adicional están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 6000: 200, 1: 5000: 1000, 1: 10.000: 100
 30 o 1: 10.000: 1000.

Preferentemente, dicho al menos un agente adicional está en una cantidad de aproximadamente 1 a 100 mg al día, preferentemente, de aproximadamente 1 a 10 mg al día, preferentemente, de aproximadamente 1 a 5 mg al día, 5 preferentemente. de aproximadamente 1, 5 o 10 mg al día.

Preferentemente, dicho agente adicional es vitamina B₆. Preferentemente, dicha vitamina B₆ está en una cantidad de aproximadamente 1 a 100 mg al día, preferentemente, de 10 aproximadamente 1 a 10 mg al día, preferentemente, de aproximadamente 1 a 5 mg al día, preferentemente, de aproximadamente 1, 5 o 10 mg al día. Preferentemente, la vitamina B₆ se administra dos veces al día, siendo cada administración de aproximadamente 5 mg.

15

En un modo de realización preferente, la presente invención proporciona vitamina D y el uno o más agentes para su uso, como se define anteriormente, en el que dicho uno o más agentes es galato de epigallocatequina (EGCG) y/o en el que dicho fibroma 20 es un fibroma uterino. A continuación, en un modo de realización preferente, la presente invención proporciona vitamina D y galato de epigallocatequina (EGCG) para su uso en el tratamiento de un fibroma uterino.

25 Preferentemente, dicho uno o más agentes están en forma de una hoja de la planta del té o de un extracto de una hoja de la planta del té. Preferentemente, dicha hoja de la planta del té es una hoja de una planta del té verde. Preferentemente, dicha hoja de la planta del té comprende dicho uno o más agentes en 30 una cantidad de aproximadamente un 30 % a 95 % en peso, preferentemente, aproximadamente un 30 % en peso, un 45 % en peso, un 50 % en peso o un 95 % en peso. Se debe entender que,

cuando hay más agentes presentes, el % en peso del uno o más agentes en dicha hoja se puede referir al de cada agente o a la suma de todos los agentes presentes.

- 5 En un modo de realización preferente del uso descrito anteriormente, dicha vitamina D y dicho uno o más agentes reducen la liberación de fibronectina y/o colágeno.

Es un objetivo adicional de la presente invención la vitamina
10 D y uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: galato de epigallocatequina (EGCG), catequina, galocatequina y galato de epicatequina (ECG), para su uso en un procedimiento para reducir la liberación de fibronectina y/o colágeno.

- 15 Preferentemente, la reducción de la liberación de fibronectina y/o colágeno se mide en comparación con un control adecuado como ningún tratamiento en absoluto, tratamiento con vitamina D sola o tratamiento con uno o más agentes solos.

- 20 En un modo de realización preferente del uso descrito anteriormente, dicha vitamina D y dicho uno o más agentes reducen el volumen de los fibromas.

Es un objetivo adicional de la presente invención la vitamina
25 D y uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: galato de epigallocatequina (EGCG), catequina, galocatequina y galato de epicatequina (ECG), para su uso en un procedimiento para reducir el volumen de los fibromas.

- 30 Preferentemente, la reducción del volumen de los fibromas se mide en comparación con un control adecuado como ningún

tratamiento en absoluto, tratamiento con vitamina D sola o tratamiento con uno o más agentes solos.

Preferentemente, dicho fibroma es un fibroma uterino y dicha
5 prevención, control y/o tratamiento de un fibroma uterino
comprende la prevención, control y/o tratamiento de al menos
un síntoma de un fibroma uterino. Preferentemente, dicho
síntoma de un fibroma uterino se selecciona del grupo que
consiste en: sangrado menstrual excesivo (menorragia),
10 dismenorrea, sangrado intermenstrual, dolor ginecológico
(agudo o crónico), relaciones sexuales dolorosas, anemia, una
función reproductiva alterada, subfertilidad, infertilidad,
aborto espontáneo, aborto recurrente, parto prematuro y una
complicación del embarazo, fatiga y un síntoma de presión tal
15 como hinchazón, incremento de la frecuencia urinaria,
trastornos intestinales.

Preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más agentes se
administran simultáneamente y/o por vía oral y/o dos veces al
20 día.

Preferentemente, la vitamina D y dicho uno o más agentes son
para su uso en combinación con una intervención terapéutica
adicional. Preferentemente, dicha intervención terapéutica
25 adicional se selecciona del grupo que consiste en: cirugía, un
agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa),
un modulador selectivo del receptor de progesterona (SPRM), un
agente antihormonal, una hormona, un analgésico
antiinflamatorio y ácido tranexámico.

30

Preferentemente, dicha cirugía se selecciona del grupo que
consiste en: tratamiento quirúrgico conservador (miomectomía),

histerectomía, miólisis, embolización de la arteria uterina (EAU) y cirugía de ultrasonido enfocada guiada por resonancia magnética (MRgFUS). Preferentemente, dicha hormona es una estroprogestina o una progesterona. Preferentemente, dicho analgésico antiinflamatorio es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE). Preferentemente, dicho modulador selectivo del receptor de progesterona es acetato de ulipristal (UPA).

También es un objetivo de la presente invención una composición que comprende:

- vitamina D,
- uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en: galato de epigallocatequina (EGCG), catequina, galocatequina y galato de epicatequina (ECG),
- un excipiente o un diluyente, y
- opcionalmente al menos un agente adicional.

Se debe entender que cualquier cantidad, proporción en peso, % en peso, definición del uno o más agentes, definición del agente adicional, definición del fibroma descrito anteriormente también se aplica a la composición.

Preferentemente, dicha composición es para su uso en la prevención, control y/o tratamiento de un fibroma, preferentemente dicho fibroma está en un tejido que contiene fibroblastos, preferentemente, dicho fibroma es un fibroma uterino, un fibroadenoma o una hiperplasia de próstata.

Preferentemente, en la composición, dicho uno o más agentes se seleccionan del grupo que consiste en: epigallocatequina-3-galato, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-galocatequina-3-O-

galato (GCG), (-)-galocatequina-3-galato, (+)-catequina (C), (-)-epicatequina (EC), (+)-galocatequina (GC), (-)-epigalocatequina, (-)-epicatequina-3-galato, (-)-catequina-3-galato y (+)-catequina-3-galato. Preferentemente, dicho uno o
 5 más agentes en la composición es un agente que es galato de epigalocatequina (EGCG). Preferentemente, dicha vitamina D se selecciona del grupo como se define anteriormente.

Preferentemente, en la composición, dicho uno o más agentes
 10 están en forma de una hoja de la planta del té o de un extracto de una hoja de la planta de té como se define anteriormente.

Preferentemente, la vitamina D en la composición está en una cantidad de aproximadamente 1 µg a 100 µg, preferentemente, de
 15 aproximadamente 25 µg o 50 µg. Preferentemente, dicho uno o más agentes en la composición está en una cantidad de aproximadamente 5 mg a 1000 mg, preferentemente, de aproximadamente 300 mg o 120 mg a 180 mg, preferentemente, de aproximadamente 150 mg. Preferentemente, en dicha composición,
 20 la vitamina D y dicho uno o más agentes están en una proporción en peso de aproximadamente 1: 50 a 1: 1.000.000, preferentemente de aproximadamente 1: 6000, 1: 50, 1: 2000, 1: 2500, 1: 3000, 1: 5000, 1: 7000, 1: 10.000 o 1: 1.000.000.

25 Preferentemente, dicho excipiente y/o diluyente se selecciona del grupo que consiste en: fosfato de calcio, fosfato dicálcico, celulosa microcristalina, estearato de magnesio, dióxido de silicio, sacarosa, goma arábiga, almidón de maíz, triglicéridos de cadena media, fosfato tricálcico,
 30 carboximetilcelulosa sódica reticulada, hidroxipropilmetilcelulosa, polietilenglicol, dióxido de

titanio, polivinilpirrolidona, talco, eritritol, xilitol, glucósidos de esteviol y sucralosa.

Preferentemente, dicho al menos un agente adicional opcional
5 en la composición se selecciona del grupo que consiste en:
vitamina B, un polifenol y DL-alfa-tocoferol. Preferentemente,
en dicha composición, la vitamina D, dicho uno o más agentes y
dicho al menos un agente opcional adicional están en una
proporción en peso de aproximadamente 1: 5000: 100 a 1: 10.000:
10 1000, preferentemente de aproximadamente 1: 6000: 200, 1: 5000:
1000, 1: 10.000: 100 o 1: 10.000: 1000. Preferentemente, dicho
al menos un agente adicional opcional en la composición está
en una cantidad de aproximadamente 1 a 100 mg al día,
preferentemente, de aproximadamente 1 a 10 mg al día,
15 preferentemente, de aproximadamente 1 a 5 mg al día,
preferentemente, de aproximadamente 1, 5 o 10 mg al día.
Preferentemente, dicho al menos un agente adicional opcional
en la composición es vitamina B₆, preferentemente, en una
cantidad de aproximadamente 1 a 100 mg, preferentemente, de
20 aproximadamente 1 a 10 mg, preferentemente, de aproximadamente
1 a 5 mg, preferentemente, de aproximadamente 1, 5 o 10 mg por
día.

Preferentemente, dicha composición se administra por vía oral.
25 Preferentemente, dicha composición se administra una o dos
veces por día.

Preferentemente, dicha composición está en forma de un
comprimido, una cápsula dura, una cápsula de gelatina blanda,
30 un polvo, un jarabe, un sello, una tableta, una pastilla para
chupar o una pastilla.

Preferentemente, dicha composición es para su uso en combinación con una intervención terapéutica adicional. Preferentemente, dicha intervención terapéutica adicional se selecciona del grupo que consiste en: cirugía, un agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa), un modulador selectivo del receptor de progesterona (SPRM), un agente antihormonal, una hormona, un analgésico antiinflamatorio y ácido tranexámico, todos los cuales pueden ser preferentemente como se define anteriormente.

10

Preferentemente, dicha composición es una composición farmacéutica, un complemento, un producto alimenticio o un producto de bebida. A continuación, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica, un complemento, un producto alimenticio o un producto de bebida que comprende los componentes definidos anteriormente para la composición.

15

En caso de que la composición sea una composición farmacéutica, dicho excipiente y/o diluyente es preferentemente farmacéuticamente aceptable.

20

Preferentemente, dicho suplemento es cualquier tipo de complemento alimenticio. Preferentemente, dicho producto alimenticio es una barra comestible o un aperitivo comestible.

25

Descripción de las figuras

Las FIGS. 1 y 2 muestran, respectivamente, la liberación de fibronectina y colágeno en fibroblastos cultivados. Ctrl = fibroblastos después de 18 días de cultivo (sin estimulación con TGF- β 1 ni tratamiento); 24 h = fibroblastos

30

después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con TGF- β 1 y adición de medio fresco vacío durante las siguientes 24 h; D3 = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con TGF- β 1 y tratamiento con vitamina D₃ durante las siguientes 24 h; EGCG = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con TGF- β 1 y tratamiento con vitamina EGCG durante las siguientes 24 h; D3 + EGCG = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con TGF- β 1 y tratamiento con una combinación de vitamina D₃ y EGCG durante las siguientes 24 h.

La FIG. 1 muestra el efecto de la vitamina D o EGCG solos o combinados después de 24 horas de incubación en la producción de fibronectina en células fibroblastos *in vitro*: la vitamina D sola incrementa ligeramente la producción de fibronectina. EGCG solo reduce la producción de fibronectina. La producción de fibronectina se reduce significativamente por la vitamina D en combinación con EGCG.

20

La FIG. 2 muestra el efecto de la vitamina D o EGCG solos o combinados después de 24 horas de incubación en la producción de colágeno en células fibroblastos *in vitro*: la vitamina D sola reduce la producción de colágeno. EGCG solo reduce la producción de colágeno. La producción de colágeno se reduce significativamente por la vitamina D en combinación con EGCG. La mayor reducción de colágeno viene dada por la combinación de vitamina D más EGCG.

30 La FIG. 3 muestra la liberación de fibronectina en fibroblastos cultivados en presencia de vitamina D₃ (A) o EGCG (B) a diferentes concentraciones después de 24 horas.

Ctrl = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con $\text{TGF-}\beta 1$ y adición de medio fresco vacío durante las siguientes 24 h.

5 La FIG. 4 muestra la liberación de colágeno en fibroblastos cultivados en presencia de vitamina D_3 (A) o EGCG (B) a diferentes concentraciones después de 24 horas. Ctrl = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con $\text{TGF-}\beta 1$ y adición de medio fresco
10 vacío durante las siguientes 24 h.

Las FIG. 5 y 6 muestran, respectivamente, la liberación de fibronectina y colágeno en fibroblastos cultivados en presencia de la combinación de vitamina D_3 y EGCG después de 24 horas.
15 Ctrl = fibroblastos después de 18 días de cultivo seguido de 24 horas de estimulación con $\text{TGF-}\beta 1$ y adición de medio fresco vacío durante las siguientes 24 h.

En las etiquetas de los ejes x, el primer número (que precede
20 a la barra) se refiere a la concentración de vitamina D_3 en ug/l y el segundo número (después de la barra) se refiere a la concentración de EGCG en mg/l, por ejemplo, 5/3 indica que se administran 5 ug/l de vitamina D_3 y 3 mg/l de EGCG.

25 La FIG. 7 muestra el volumen de los miomas (es decir, fibromas uterinos) en los grupos de pacientes tratados y de control al inicio (T_0) y después del período de estudio de 4 meses (T_1). El volumen de los miomas se indica (media $\pm$ EEM) como cm^3 . Grupo tratado = vitamina D + EGCG durante 4 meses; grupo de
30 control = sin tratamiento durante 4 meses. Un valor de p de $\leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

*Significación de T_1 frente a T_0 . Prueba estadística = prueba de la T para datos independientes.

La FIG. 8 muestra la puntuación promedio de la intensidad de los síntomas (IS) en mujeres con miomas. Grupo tratado (vitamina D + EGCG durante 4 meses); grupo de control (sin tratamiento durante 4 meses); T_0 = inicio; T_1 = después del período de estudio de 4 meses. Un valor de p de $\leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. *Significación de T_1 frente a T_0 . Prueba estadística = prueba de la T para datos independientes.

La FIG. 9 muestra la variación de la calidad de vida (CdV) y la intensidad de los síntomas (IS) en mujeres con miomas. Los datos se presentan como diagramas de cajas. A: variación de la calidad de vida (CdV). B: variación de la intensidad de los síntomas (IS). La variación se determina entre los cambios de T_0 a T_1 en cada grupo (es decir, como la diferencia de la puntuación en T_1 - la puntuación en T_0), a través de la evaluación de las respuestas de las pacientes en los cuestionarios. Grupo tratado (vitamina D + EGCG durante 4 meses); grupo de control (sin tratamiento durante 4 meses). La prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney se usó para los análisis. Un valor de p de $\leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo.

Descripción detallada de la invención

Lo siguiente proporciona definiciones de diversos términos y expresiones usados en la presente solicitud para describir la invención. Se debe entender que las definiciones de términos y expresiones usados en más de un aspecto o modo realización de

la invención se aplican del mismo modo a cualquier aspecto o modo realización de la invención descrito en el presente documento en el que aparecen esos términos y expresiones. Esto se aplica del mismo modo con independencia de dónde, es decir, 5 qué sección, dentro de la presente solicitud, se definen o analizan dichos términos.

Además, aunque la presente solicitud menciona modos de realización separados, se debe entender que cualquier modo de 10 realización, y los rasgos característicos en los mismos, se pueden combinar libremente con cualquier otro modo de realización y los rasgos característicos en los mismos, incluso en ausencia de una declaración explícita a tal efecto. Dichas combinaciones de un modo de realización con otro, o de uno o 15 más rasgos característicos en cualquier modo de realización con uno o más rasgos característicos en cualquier otro modo de realización, pertenecen, por tanto, a la divulgación de la presente solicitud según se presentó tal como la entiende el experto en la técnica.

20

En esta solicitud, el uso del singular (por ejemplo, "un/una" o "el/la") puede incluir el plural a menos que se indique específicamente de otro modo. Como se usa en el presente documento, "uno o más" es un sinónimo de "al menos uno" y se 25 pretende que se refiera a un agente o a cualquier combinación de más de un agente. Como se usa a continuación en el presente documento, el singular "un agente" o "el agente" se pretende que se refiera al uno o más agentes como se define anteriormente. Cuando los ingredientes se administran con un 30 agente adicional, diferente del uno o más agentes, este agente adicional se define como "agente adicional". Además, el uso

del término "incluyendo", así como otras formas gramaticales tales como "incluye" e "incluido", no es limitante.

Como se usa en el presente documento, el término "que comprende" tiene el amplio significado estándar "que incluye", "que engloba" o "que contiene". Incluye el(los) elemento(s) mencionado(s) explícitamente, y también permite, pero no requiere, la presencia de otro u otros elemento(s) no mencionado(s). Además de este amplio significado, como se usa en el presente documento, el término "que comprende" también engloba el significado limitante "que consiste en", de acuerdo con el cual solo está(n) presente(s) el(los) elemento(s) mencionado(s) explícitamente y ningún otro. Además, el término "que comprende" también incluye el significado de "que consiste esencialmente en", lo que significa que puede(n) estar presente(s) otro(s) elemento(s) aparte de los mencionados explícitamente, siempre que el(los) elemento(s) adicional(es) presente(s) no altere(n) el efecto técnico logrado por el(los) elemento(s) explícitamente mencionado(s).

20

Como se usa en el presente documento, el término "aproximadamente" y sinónimos del mismo cuando se refiere a un valor particular, por ejemplo, un valor extremo o valores extremos de un intervalo, engloba y divulga, además del valor específicamente mencionado por sí mismo, una determinada variación alrededor del valor específicamente mencionado. Dicha variación puede surgir, por ejemplo, de la variabilidad normal de la medición, por ejemplo, en el pesaje o la distribución de diversas sustancias por procedimientos conocidos por el experto en la técnica. El término "aproximadamente" y sinónimos del mismo se debe entender de modo que englobe y divulgue un intervalo de variabilidad por

encima y por debajo de un valor específico indicado, estableciéndose dichos valores porcentuales con respecto al valor específico mencionado por sí mismo, como sigue. El término "aproximadamente" puede englobar y divulgar una

5 variabilidad de $\pm 5,0\%$, $\pm 4,9\%$, $\pm 4,8\%$, $\pm 4,7\%$, $\pm 4,6\%$, $\pm 4,5\%$, $\pm 4,4\%$, $\pm 4,3\%$, $\pm 4,2\%$, $\pm 4,1\%$, $\pm 4,0\%$, $\pm 3,9\%$, $\pm 3,8\%$, $\pm 3,7\%$, $\pm 3,6\%$, $\pm 3,5\%$, $\pm 3,4\%$, $\pm 3,3\%$, $\pm 3,2\%$, $\pm 3,1\%$, $\pm 3,0\%$, $\pm 2,9\%$, $\pm 2,8\%$, $\pm 2,7\%$, $\pm 2,6\%$, $\pm 2,5\%$, $\pm 2,4\%$, $\pm 2,3\%$, $\pm 2,2\%$, $\pm 2,1\%$, $\pm 2,0\%$, $\pm 1,9\%$, $\pm 1,8\%$, $\pm 1,7\%$, $\pm 1,6\%$, $\pm 1,5\%$, $\pm 1,4\%$, $\pm 1,3\%$, $\pm 1,2\%$, $\pm 1,1\%$, $\pm 1,0\%$, $\pm 0,9\%$, $\pm 0,8\%$, $\pm 0,7\%$, $\pm 0,6\%$, $\pm 0,5\%$, $\pm 0,4\%$, $\pm 0,3\%$, $\pm 0,2\%$, $\pm 0,1$. El término "aproximadamente" y

10 sinónimos del mismo, en referencia al valor particular mencionado, puede englobar y divulgar ese valor particular exacto por sí mismo, independientemente de cualquier mención

15 explícita de que se incluye este valor particular exacto; incluso en ausencia de una indicación explícita de que dicho término incluye el valor mencionado exacto particular, este valor particular exacto todavía se incluye en el intervalo de variación creado por dicho término y, por lo tanto, se divulga.

20 Como se expone anteriormente, la presente invención se refiere a la vitamina D y un agente tal como EGCG, como se define anteriormente, para su uso en un procedimiento de control/prevencción/tratamiento de fibromas en un sujeto. En un

25 procedimiento de control/prevencción/tratamiento de fibromas en un sujeto que lo necesita o que potencialmente lo necesita, que comprende la etapa de administrar vitamina D y un agente tal como EGCG como se define anteriormente a dicho sujeto. En un aspecto relacionado adicional, la presente invención

30 corresponde al uso de vitamina D y un agente tal como EGCG, como se define anteriormente, en la fabricación de un

medicamento para el tratamiento/prevención/control de fibromas en un sujeto.

Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a un mamífero, preferentemente, un ser humano. El sujeto puede estar en necesidad, posible necesidad o necesidad sospechada de prevención/control/tratamiento de un fibroma.

El sujeto puede necesitar tratamiento de un fibroma. En dichos casos, esta necesidad típicamente se habrá determinado previamente obteniendo un diagnóstico de fibroma. En dichos casos, en los que ya existe un diagnóstico o diagnósticos de una afección patológica o afecciones patológicas, la invención tal como se expone en el presente documento se puede implementar para tratar una patología existente (por ejemplo, fibroma uterino), mientras que simultáneamente previene el desarrollo de al menos un síntoma de la misma (por ejemplo, sangrado menstrual excesivo, dismenorrea, dolor ginecológico crónico y síntomas de presión tal como sensación de hinchazón y trastornos intestinales). Sin embargo, también se contempla que la materia objeto de la invención tal como se expone en el presente documento se pueda aplicar a sujetos sospechosos de tener una necesidad de la misma. Dichos sujetos pueden estar en riesgo de desarrollar esta afección. Por ejemplo, sujetos con sobrepeso u obesidad, sujetos con un diagnóstico positivo de endometriosis o tensión arterial alta, y sujetos con antecedentes familiares de fibromas uterinos o, más en general, mujeres negras que tienen más riesgo de desarrollar fibromas uterinos.

30

En consecuencia, como se usa en el presente documento, el término "tratar" o variantes gramaticalmente relacionadas del

mismo, tales como "tratamiento", "que trata", etc., significa la mejora, incluso temporal, que engloba, pero no requiere la supresión completa de un estado patológico o de al menos un síntoma del mismo. En el sentido más amplio, el tratamiento
5 del fibroma, según los usos médicos y los procedimientos de tratamiento en el presente documento, significa lograr al menos una reversión parcial del tejido fibrótico disfuncional a su estado funcional anterior. En particular, el tratamiento en el presente sentido engloba la restauración de la arquitectura y
10 función orgánica apropiadas en los órganos en los que se ha desarrollado tejido fibrótico. Por ejemplo, en el caso de que el órgano sea el útero, el tratamiento englobaría la reducción de la proliferación de fibroblastos y la proteína de la matriz extracelular (MEC) en el tejido fibrótico para restaurar el
15 tejido uterino funcional.

Como se usa en el presente documento, el término "fibroma" se refiere en particular a una afección en la que se desarrollan células de tejido muscular no cancerosas y tejido conjuntivo
20 fibroso en un tejido. Este fibroma se puede desarrollar a partir de una célula muscular anómala en el tejido. Un fibroma se puede diagnosticar durante un examen de rutina o por uno o más de los siguientes: rayos X, ecografía o ultrasonografía, resonancia magnética nuclear, histerosalpingografía,
25 histeroscopia, biopsia, análisis de sangre. Como se usa en el presente documento, "fibroma" es preferentemente un fibroma uterino.

La mayoría del volumen de los fibromas normalmente consiste en
30 fibronectina, colágeno y/o proteoglucano. Por lo tanto, el control, tratamiento y/o prevención de los fibromas se puede medir mediante la liberación de fibronectina, colágeno y/o

proteoglucano. En particular, mantener aproximadamente constante, disminuir, inhibir y/o prevenir la liberación de fibronectina, colágeno y/o proteoglucano son indicativos de control, tratamiento y/o prevención de los fibromas.

5

Dicho mantenimiento aproximadamente constante, disminución, inhibición y/o prevención se puede medir con respecto a un control apropiado mediante técnicas conocidas en la técnica, incluyendo cualquier procedimiento conocido de detección y/o
10 cuantificación de fibronectina, colágeno y/o proteoglucano, tal como inmunolectrotransferencia e inmunoanálisis enzimático.

Los controles apropiados incluyen, pero no se limitan a:
15 sujetos sanos, sujetos que tienen un fibroma y no están siendo tratados, sujetos que tienen un fibroma y están siendo tratados con un enfoque terapéutico diferente al de la presente invención, sujetos que tienen un fibroma y están siendo tratados con vitamina D solo, sujetos que tienen un fibroma y
20 están siendo tratados con un agente tal como EGCG solo.

Como se usa en el presente documento, los términos "fibroma uterino", "liomioma uterino" y "mioma" se usan de manera intercambiable y se refieren a un fibroma, como se define
25 anteriormente, localizado en el útero. Este tumor de fibroma se puede desarrollar a partir de una célula muscular anómala en el útero, que se multiplica rápidamente debido a que crece la influencia del estrógeno del útero incrementando el número de fibroblastos y proteínas de la MEC (en particular
30 fibronectina, colágeno y/o proteoglucano), lo que da lugar a una función patológica alterada. Un fibroma uterino se puede diagnosticar durante un examen de rutina o por uno o más de

los siguientes: rayos X, ecografía o ultrasonografía transvaginal o transabdominal, resonancia magnética nuclear, histerosalpingografía, histeroscopia, biopsia endometrial, análisis de sangre. En general, el tratamiento de los fibromas
5 uterinos puede incluir: cirugía, un agonista de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRHa), un modulador selectivo del receptor de progesterona (SPRM), un agente antihormonal, una hormona, un analgésico antiinflamatorio y ácido tranexámico, como se define anteriormente. Cualquiera de dichos
10 tratamientos de fibromas uterinos se puede usar en combinación con vitamina D y el agente de acuerdo con la presente invención. Como se usa en el presente documento, los términos "hiperplasia de próstata", "hiperplasia prostática benigna (HPB)", "agrandamiento prostático" y "liomioma prostático" se refieren
15 a un fibroma, como se define anteriormente, localizado en la próstata. Por ejemplo, "hiperplasia de próstata" indica un incremento en el número de células en la próstata y/o un crecimiento no canceroso en el tamaño de la glándula prostática. La hiperplasia prostática puede dar como resultado
20 un incremento en el depósito de la matriz extracelular (MEC), es decir, un incremento en la liberación/nivel de fibronectina, colágeno y/o proteoglucano. En otras palabras, una hiperplasia prostática es un fibroma de próstata.

25 Como se usa en el presente documento, el término "fibroadenoma" se refiere a un fibroma, como se define anteriormente localizado, en la mama. Preferentemente, es un tumor benigno de mama en seres humanos, que se caracteriza por la proliferación de componentes estromales epiteliales y
30 fibroblásticos de la unidad ductal terminal, es decir, en una mayor liberación/nivel de fibronectina, colágeno y/o

proteoglucano. En otras palabras, un fibroadenoma es un fibroma mamario.

Como se usa en el presente documento, el término "prevenir" o
5 las variantes gramaticalmente relacionadas del mismo, tal como
"prevención", se refieren a situaciones en las que se aplican
los usos médicos y los procedimientos de tratamiento descritos
en el presente documento para evitar la producción posible,
sospechada o esperada de un fibroma. Dicha sospecha de que un
10 fibroma se puede derivar (incluso en ausencia de un diagnóstico
correspondiente) de los antecedentes del sujeto, por ejemplo,
si el sujeto tuvo previamente un fibroma. En dicha situación,
puede existir una sospecha justificada de que un fibroma
previamente tratado se puede reproducir. Dicha sospecha de que
15 se puede producir un fibroma (incluso en ausencia de un
diagnóstico correspondiente) se puede aplicar también a sujetos
en riesgo de desarrollar esta afección, por ejemplo, sujetos
con sobrepeso u obesidad, sujetos con un diagnóstico positivo
de endometriosis o con tensión arterial alta, y sujetos con
20 antecedentes familiares de fibromas o, más en general, mujeres
negras que tienen más riesgo de desarrollar fibromas uterinos.
La vitamina D y el uno o más agentes o la composición, como se
define anteriormente, también se pueden usar para controlar el
tamaño y/o el crecimiento del fibroma durante un período
25 prolongado de tiempo, por ejemplo, más de 1 mes,
aproximadamente 4 meses, más de 6 meses, más de 1 año o más
años. Dichas situaciones se pueden aplicar, por ejemplo, cuando
los miomas son asintomáticos o de tamaño pequeño, de modo que
no se prescriban intervenciones, y se aconseje a los pacientes
30 que controlen el tamaño y el crecimiento de los miomas, con
visitas de rutina al especialista y análisis ecográficos.

Como se usa en el presente documento, el término "vitamina D" engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como vitamina D, incluyendo las sustancias que tienen las fórmulas químicas $C_{27}H_{44}O$ = Vitamina D_3 (colecalfiferol),
 5 $C_{28}H_{44}O$ = Vitamina D_2 (ergocalciferol), $C_{27}H_{44}O_2$ = 25(OH)vitamina D (calcidiol), $C_{27}H_{44}O_3$ = 1,25 dihidroxi-vitamina D (calcitriol). Preferentemente, la vitamina D se refiere a la vitamina D_3 .

10 Las fuentes de vitamina D incluyen ingestas de alimentos tales como aceites de pescado, pescado graso, alimentos enriquecidos y complementos vitamínicos.

Como se usa en el presente documento, el término "vitamina B"
 15 engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como vitamina B, incluyendo, pero sin limitarse a: tiamina (vitamina B_1), riboflavina, ácido nicotínico, ácido pantoténico, biotina, vitamina B_6 , folato, vitamina B_{12} (cianocobalamina). Preferentemente, la vitamina B se refiere a
 20 la vitamina B_6 . La vitamina B_6 a su vez engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como vitamina B_6 , tales como piridoxina (PN), piridoxina 5'-fosfato (P5P), piridoxal (PL), piridoxal 5'-fosfato (PLP), piridoxamina (PM), piridoxamina 5'-fosfato (PMP), ácido 4-piridóxico (PA),
 25 piritinol.

Las fuentes de vitamina B_6 incluyen alimentos de origen vegetal o animal, tales como cereales, harina integral, lentejas, leche, aguacate, frutas deshidratadas, pimientos, espinacas,
 30 brócoli, judías verdes, zanahorias, patatas, plátanos, semillas de girasol, semillas de apio, vísceras, atún, crustáceos, salmón, castañas, huevos, soja, champiñones,

chocolate, hierbas aromáticas, pimentón, guindilla, verduras de hoja verde, levadura de cerveza, pescado, guisantes.

Como se usa en el presente documento, el término "EGCG" engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como EGCG, incluyendo la sustancia que tiene la fórmula química $C_{22}H_{18}O_{11}$, tal como: galato de epigallocatequina (EGCG), galato de epigallocatequina-3, (-)-epigallocatequina-3-galato, (-)-galocatequina-3-0-galato (GCG), (-)-galocatequina-3-galato.

10

Como se usa en el presente documento, el término "galato de epicatequina" (ECG) engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como galato de epicatequina, incluyendo las sustancias que tienen la fórmula química: $C_{22}H_{18}O_{10}$, tales como: (-)-epicatequina-3-galato, (-)-catequina-3-galato (CG) y (+)-catequina-3-galato (CG).

15

Como se usa en el presente documento, el término "catequina" engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como catequina, incluyendo las sustancias que tienen la fórmula química $C_{15}H_{14}O_6$, tales como: catequina, (+)-catequina (C), epicatequina, (-)-epicatequina (EC).

20

Como se usa en el presente documento, el término "galocatequina" engloba y divulga todas las sustancias comúnmente conocidas como galocatequina, incluyendo las sustancias que tienen la fórmula química: $C_{15}H_{14}O_7$, tales como: galocatequina, (+)-galocatequina (GC), epigallocatequina, (-)-epigallocatequina (EGC).

25

30

EGCG, ECG, catequina y galocatequina están comprendidos en una variedad de alimentos, cualquiera de los cuales o cualquier

combinación de los cuales se puede usar en la presente invención como fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina. En particular, en la presente invención, la fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina puede ser: té
5 verde, té blanco, té oolong, té negro, harina de algarroba, moras, manzanas, frambuesas, nueces pecanas, avellanas, pistachos, arándanos, ciruelas, melocotones, aguacates, uvas, fresas, cacao, chocolate, vino, frutas, verduras y/o cebollas. La harina de algarroba se puede obtener del fruto de la planta
10 Ceratonia.

Preferentemente, la fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina es el té, en particular: té verde, té blanco, té oolong y té negro. Cualquier planta del té se puede usar como
15 fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina en la presente invención. Preferentemente, se usa *Camellia sinensis*. Cualquier parte de una planta del té o la planta completa se puede usar como fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina en la presente invención. Preferentemente, se
20 usan hojas de una planta del té. Preferentemente, se usan hojas de *Camellia sinensis* como fuente de EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina en la presente invención.

Las hojas de té pueden comprender diferentes cantidades de
25 EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina en particular de un 30 % a un 95 % en peso, por ejemplo, un 30 % en peso, un 45 % en peso, un 50 % en peso y un 95 % en peso. Dichas cantidades se pueden determinar mediante titulación y dependen de la pureza y el procesamiento de la materia prima.

Preferentemente, EGCG, ECG, catequina y/o galocatequina se usan en la presente invención como un extracto seco de té, preferentemente, un extracto seco de té verde.

- 5 En un modo de realización, la presente invención se refiere a una combinación de vitamina D y EGCG.

En un modo de realización preferente, la presente invención se refiere a una combinación de vitamina D, EGCG y vitamina B₆.

- 10 En un modo de realización, la presente invención se refiere a la concentración respectiva:

Composición de 1 comprimido

- Extracto de té verde: 333,35 mg (Tit. 45 % en galato de
15 epigalocatequina (EGCG) 150 mg)

Vitamina B₆ 5 mg

Vitamina D 25 µg

- En un modo de realización, la presente invención se refiere a
20 una ingesta diaria de:

Extracto de té verde: 666,70 mg (Tit. 45 % en galato de
epigalocatequina (EGCG) 300 mg)

Vitamina B₆ 10 mg

- 25 Vitamina D 50 µg correspondiente a 2000 UI

Las sustancias de la presente invención, en particular vitamina D, vitamina B, EGCG, ECG, catequina y galocatequina pueden existir y usarse de acuerdo con la invención en cualquier forma
30 salina, solvatada, estereoisomérica, iónica dipolar, tautomérica y/o isotópica.

Las sales de las sustancias de la presente invención son preferentemente farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas comprenden sales no tóxicas convencionales obtenidas por salificación de un agente
5 de la presente invención con ácidos inorgánicos (por ejemplo, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico o fosfórico), o con ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, propiónico, succínico, benzoico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, cinámico, mandélico, salicílico, glicólico, láctico, oxálico, málico,
10 maleico, malónico, fumárico, tartárico, cítrico, p-toluenosulfónico, metanosulfónico, etanosulfónico o naftalensulfónico). Para revisiones sobre sales farmacéuticas adecuadas, véase [Berge S. M. *et al.*, J. Pharm. Sci. 1977, 66, 1-19; Gould P. L. Int. J. Pharm 1986, 33, 201-217; Bighley *et*
15 *al.* Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Marcel Dekker Inc, Nueva York 1996, Volumen 13, página 453-497; y Remington "The Science and Practice of Pharmacy", Lippincott Williams & Wilkins, 2000].

20 Además, se pueden formar sales de adición de bases farmacéuticamente aceptables con una base inorgánica u orgánica adecuada tal como trietilamina, etanolamina, trietanolamina, diciclohexilamina, hidróxido de amonio, piridina. El término "base inorgánica", como se usa en el presente documento, tiene
25 su significado ordinario tal como lo entiende un experto en la técnica y se refiere en general a un compuesto inorgánico que puede actuar como aceptor de protones. El término "base orgánica", como se usa en el presente documento, también tiene su significado ordinario tal como lo entiende un experto en la
30 técnica y se refiere en términos generales a un compuesto orgánico que puede actuar como un aceptor de protones.

Otras sales farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen sales de metales alcalinos o alcalinotérreos farmacéuticamente aceptables tales como sales de sodio, potasio, calcio o magnesio.

5

La invención se refiere al uso de todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de las sales de las sustancias de la presente invención.

10 Además, las sustancias de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas, así como en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, EtOH y similares.

15 Determinadas sustancias de la presente invención, en particular EGCG, ECG, catequina y galocatequina, pueden existir en formas estereoisoméricas (por ejemplo, pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos). Todos los estereoisómeros de las sustancias de la presente invención, en particular EGCG,
20 ECG, catequina y galocatequina, se pueden usar en el tratamiento de fibromas de acuerdo con la presente invención. El uso de estereoisómeros individuales (enantiómeros y diastereómeros) y mezclas de estos están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Las mezclas racémicas se
25 pueden separar para dar su enantiómero individual usando HPLC preparativa usando una columna con fase estacionaria quiral o se pueden resolver para proporcionar enantiómeros individuales utilizando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica.

30

Las sustancias de la presente invención pueden existir en forma de ion dipolar, todas las cuales se pueden usar en el

tratamiento de fibromas de acuerdo con la presente invención. Igualmente, se entiende que las sustancias de la presente invención pueden existir en formas tautoméricas y su uso también se incluye dentro del alcance de la presente invención.

5 La invención también incluye el uso de todas las variaciones isotópicas adecuadas de sustancias de la presente invención. Una "variación isotópica" de una sustancia de la invención se define como aquella en la que al menos un átomo se reemplaza por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa

10 atómica diferente de la masa atómica que normalmente se encuentra en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a las sustancias de la invención incluyen isótopos tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl . Determinadas variaciones isotópicas de la invención,

15 por ejemplo, aquellas en las que se incorpora un isótopo radiactivo, tal como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución de fármacos y/o tejidos de sustrato. Además, la sustitución con isótopos tales como el deuterio ^2H puede ofrecer determinadas ventajas terapéuticas resultantes de una

20 mayor estabilidad metabólica. Las variaciones isotópicas de las sustancias de la invención se pueden preparar, en general, mediante procedimientos convencionales tales como mediante los procedimientos ilustrativos o mediante las preparaciones descritas en los ejemplos a continuación usando variaciones

25 isotópicas apropiadas de reactivos adecuados.

Como se usa en el presente documento, el término "combinación" normalmente se refiere al acoplamiento del agente, como se define anteriormente, y al menos vitamina D con el propósito

30 de su administración conjunta a un sujeto dentro de un régimen de tratamiento dado. Un régimen de tratamiento dado puede comprender administraciones conjuntas múltiples y repetidas de

vitamina D y el agente, como se define anteriormente, durante un período de tiempo predeterminado, por ejemplo, más de 1 mes, más de 2 meses, más de 3 meses, más de 4 meses, más de 5 meses o más de 6 meses o más, siendo preferente un período de tiempo de al menos 4 meses o de aproximadamente 4 meses. La administración conjunta del agente, como se define anteriormente, y al menos vitamina D se puede repetir varias veces al día, por ejemplo, una vez, dos veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces o más, siendo preferente una repetición de aproximadamente dos veces al día. Es decir, la administración conjunta de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se repite durante un período de tiempo predeterminado, y la suma de los casos de administración conjunta durante este período de tiempo predeterminado constituye el régimen profiláctico o terapéutico.

El acoplamiento de la vitamina D y el agente, por ejemplo, como se define anteriormente por una "combinación" de estas dos sustancias, no necesita ser físico ni implicar una simultaneidad de administración. La administración de vitamina D y el agente o una combinación de los mismos, como se define anteriormente, por lo tanto, engloba y divulga múltiples posibilidades con respecto a la vía y el momento de administración de las sustancias respectivas. Se engloba y divulga, por ejemplo, el acoplamiento de la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, para la administración simultánea por la misma vía, la administración simultánea por diferentes vías, la administración escalonada cronológicamente (es decir, no simultánea) por la misma vía, o la administración escalonada cronológicamente (es decir administración no simultánea) por diferentes vías. Cualquiera de las vías de administración descritas en el presente documento se puede

combinar de cualquier manera, aunque, en general, será preferente que la vía sea la oral. Especialmente preferente es la administración simultánea de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, por vía oral, por ejemplo, cuando la
5 vitamina D y el agente como se define anteriormente están presentes en una composición, por ejemplo, en una de las composiciones según la invención expuestas en el presente documento, como en forma de comprimido, cápsula dura, cápsula de gelatina blanda o polvo, por ejemplo, en forma de sobre,
10 para ingestión.

La administración simultánea de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, por la misma vía podría adoptar, por ejemplo, la forma de vitamina D y el agente como se define
15 anteriormente que está comprendido en la misma composición física, administrándose esa composición al sujeto, por ejemplo, ingerida por él, de modo que la vitamina D y el agente como se define anteriormente entren en el cuerpo por la misma vía, por ejemplo, por vía oral, al mismo tiempo. Sin embargo, también
20 es posible el acoplamiento de la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, para la administración escalonada (es decir, no simultánea) dentro de una administración conjunta dada y también se engloba en la presente invención y se divulga en el término "combinación". El orden de administración de
25 vitamina D y el agente, como se define anteriormente, no es particularmente importante; la administración escalonada cronológicamente (es decir, no simultánea) de vitamina D y el agente como se define anteriormente podría englobar la administración previa del agente como se define anteriormente
30 y la administración posterior de vitamina D, o la administración previa de vitamina D y la administración posterior del agente como se define anteriormente. Por ejemplo,

la administración escalonada (es decir, no simultánea) de vitamina D y el agente como se definió anteriormente por la misma vía puede adoptar la forma de administración oral inicial de vitamina D, seguida de la administración oral del agente como se define anteriormente; el acoplamiento de la vitamina D y el agente como se define anteriormente de esta manera se encuentra dentro del alcance de la presente invención y dentro del significado de, y se divulga por, "combinación" como se usa en el presente documento. Por el contrario, la administración escalonada (es decir, no simultánea) de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, por diferentes vías podría, por ejemplo, adoptar la forma de administración oral inicial de vitamina D, seguida de la administración del agente como se define anteriormente, por ejemplo, supositorio; el acoplamiento de la vitamina D y el agente como se define anteriormente de este modo también se encuentra dentro del alcance de la presente invención y dentro del significado de, y se divulga por, "combinación" como se usa en el presente documento.

20

Como se usa en el presente documento, el término "no simultáneamente" significa que la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se administran de manera escalonada cronológicamente, es decir, en diferentes momentos. La administración se refiere a una administración conjunta respectiva de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, dentro de un régimen más amplio de tratamiento o profilaxis. Por ejemplo, un modo de realización implica administrar el agente, como se define anteriormente, al sujeto antes de administrar vitamina D al sujeto. Otro modo de realización implica administrar el agente, como se define anteriormente, al sujeto después de administrar Vitamina D al

30

sujeto. Se entiende que dicha administración no simultánea indica cualquier caso respectivo de administración conjunto de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, dentro del contexto más amplio del régimen de tratamiento general.

5 Como se menciona en el presente documento, con independencia del orden de administración, es decir, el agente, como se define anteriormente, en primer lugar y la vitamina D, en segundo o viceversa, la administración combinada respectiva puede ser por las mismas o diferentes vías.

10

En otro modo de realización, la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se administran al sujeto simultáneamente. Como se menciona anteriormente, la administración simultánea de vitamina D y el agente, como se
15 define anteriormente, se puede efectuar por las mismas o diferentes vías. Más típicamente, será más ventajoso y cómodo efectuar la administración simultánea de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, por la misma vía, preferentemente, por una vía de administración oral. Esto se
20 logrará con mayor frecuencia combinando vitamina D y el agente, como se define anteriormente, para su administración en la misma composición, por ejemplo, en forma de comprimido, incluyendo, pero sin limitarse a, un comprimido efervescente, un polvo (especialmente presentado en la forma de un sobre),
25 una cápsula dura, una cápsula de gelatina blanda, un jarabe, un sello, una tableta o una pastilla para chupar.

No hay restricciones particulares sobre la duración del tiempo entre la administración de vitamina D y el agente, como se
30 define anteriormente, en el caso de que la administración conjunta esté escalonada cronológicamente, es decir, no simultánea, sin embargo, en general, será más eficaz y cómoda

cuando el intervalo entre la administración de vitamina D y el agente como se define anteriormente sea breve y se acerque a la simultaneidad, por ejemplo, del orden de minutos. En algunos casos, dicho intervalo se puede extender hasta aproximadamente una hora o varias horas entre las administraciones respectivas. En algunos casos, entonces, en el caso de que la administración conjunta de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, esté escalonada cronológicamente, el intervalo entre la administración en algunos casos puede ser de hasta 12 horas. Sin embargo, incluso en el caso de que la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se administren de manera escalonada cronológicamente, ya sea por las mismas o diferentes vías, el término "combinación" significa que se habrá completado una administración conjunta de la vitamina D y el agente como se define anteriormente dentro de cualquier régimen, es decir, ambas sustancias se habrán administrado, para cuando se produzca la siguiente administración conjunta respectiva de vitamina D y el agente como se define anteriormente (que, de nuevo, puede ser simultánea o cronológicamente escalonada por las mismas o diferentes vías de una manera correspondiente son diferentes del escalonamiento cronológico y las vías de la administración conjunta previa) dentro del mismo régimen.

Como se usa en el presente documento, el término "composición" engloba y divulga cualquier entidad física que comprenda o consista en, o consista esencialmente en las sustancias citadas respectivas, es decir que comprende o que consiste en o que consiste esencialmente en la vitamina D y el agente como se define anteriormente. La forma física de la composición no está restringida. Por ejemplo, el término "composición" engloba y divulga un polvo en el que las sustancias mencionadas están

presentes cada una en forma de polvo. Como otro ejemplo, el término "composición" también engloba y divulga una solución líquida en la que las sustancias mencionadas están presentes en forma solubilizada. Como otro ejemplo, el término

5 "composición" también engloba y divulga una emulsión en la que están presentes las sustancias mencionadas. Como otro ejemplo, el término "composición" también engloba y divulga una suspensión en la que están presentes las sustancias mencionadas. Como otro ejemplo, el término "composición"

10 también engloba y divulga mezclas en las que el agente, como se define anteriormente, está en una forma, por ejemplo, un sólido tal como un polvo, mientras que la vitamina D está en otra forma, por ejemplo, un líquido. En particular, el término "composición" puede ser una "composición farmacéutica" como se

15 define a continuación en el presente documento, y se puede formular para una vía de administración deseada. Como se usa y divulga en el presente documento, el término "composición" también puede ser una composición adecuada para administración oral, por ejemplo, en forma de comprimido, incluyendo, pero

20 sin limitarse a, un comprimido efervescente o un comprimido multicapa, un polvo, por ejemplo, en forma de un sobre, una cápsula dura, una cápsula de gelatina blanda, un jarabe, un sello, una tableta o una pastilla para chupar, una pastilla, por ejemplo, una pastilla de goma, un bálsamo o una preparación

25 líquida. En determinados modos de realización especialmente preferentes de la invención, la "composición" que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, puede estar en forma de una cápsula de gelatina suave. En otros modos de realización determinados especialmente preferentes de la

30 invención, la "composición" que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, puede estar en forma de un polvo. El término "composición" también puede ser una

composición adecuada para la entrega por vía no oral, por ejemplo, en forma de un supositorio, un comprimido, una cápsula dura, una cápsula de gelatina blanda, una crema, un gel, un parche o un líquido. A continuación, en el presente documento, se exponen otras formas farmacéuticas de la composición, así como las vías de administración referidas.

En los usos médicos y procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento, se contempla que la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se pueden administrar en combinación con una o más sustancias adicionales.

Por ejemplo, la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se pueden administrar en combinación con una fuente de vitamina B₆. La inclusión de una fuente de vitamina B₆ para la administración en combinación con vitamina D y el agente, como se define anteriormente, de acuerdo con los usos médicos y los procedimientos de tratamiento expuestos en el presente documento puede ser especialmente ventajosa en el caso de los fibromas. La ingesta de vitamina B₆ contribuye a la regulación de la actividad hormonal, que se considera un factor de riesgo para los fibromas uterinos. Una de dichas fuentes de vitamina B₆ se refiere a un grupo de compuestos químicamente similares: piridoxina (PN), piridoxina 5'-fosfato (P5P), piridoxal (PL), piridoxal 5'-fosfato (PLP), piridoxamina (PM), piridoxamina 5'-fosfato (PMP), ácido 4-piridóxico (PA), piritinol.

Por ejemplo, un modo de realización de los usos médicos y procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento puede implicar la administración combinada de aproximadamente 150 mg de EGCG y aproximadamente 25 µg de

vitamina D. Otro modo de realización de los usos médicos y procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento puede implicar la administración combinada de aproximadamente 150 mg de EGCG, aproximadamente 25 µg de
5 vitamina D y 5 mg de vitamina B₆.

Como otro ejemplo, la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en los usos médicos y procedimientos de tratamiento descritos en el presente documento también se
10 pueden administrar en combinación con uno o más polifenoles. La inclusión de uno o más polifenoles para la administración en combinación con vitamina D y el agente, como se define anteriormente de acuerdo con los usos médicos y los procedimientos de tratamiento establecidos en el presente
15 tratamiento, puede ser especialmente ventajosa en el caso de los fibromas. Como ejemplo, los polifenoles pueden derivar de cacao, aceite de oliva, uva y granada. Los polifenoles son conocidos por tener un efecto positivo sobre los fibromas; los polifenoles del aceite de oliva, tales como el hidroxitirosol,
20 son conocidos por sus potentes efectos antioxidantes y antiinflamatorios.

En consecuencia, en un modo de realización, la composición según la invención es una composición farmacéutica. Las
25 composiciones de la invención, incluyendo las composiciones farmacéuticas, pueden comprender además al menos un ingrediente farmacéuticamente aceptable. Si bien la composición según la invención, incluyendo la composición farmacéutica, se puede administrar por sí misma a un sujeto, se entenderá que añadir
30 uno o más ingredientes farmacéuticamente aceptables aparte de la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, puede ser ventajoso para hacer que la composición sea más adecuada

para su administración directa a un sujeto por una vía predeterminada dada. En consecuencia, la "composición farmacéutica" se puede formular para que comprenda, además de vitamina D y el agente como se define anteriormente, un
5 ingrediente farmacéuticamente aceptable que haga que la composición sea más adecuada o especialmente adecuada para su administración directa a un sujeto por una vía dada, sin más elaboración. Esta idoneidad puede corresponder a un número de vías de administración diferentes, incluyendo la oral,
10 parenteral, transmucosa, vaginal o perivaginal, tópica, transdérmica o intravesical, como se expone además en lo siguiente. Cuando están presentes, y a modo de ilustración no limitante, dichos ingredientes, así como su impacto ventajoso sobre la idoneidad de la composición según la invención,
15 incluyendo composición farmacéutica, complemento, producto alimenticio y producto de bebida, para diferentes vías de administración, se exponen a continuación.

a) Formulación adecuada para administración oral

20

Una composición de adecuada para administración oral se puede preparar, envasar o vender en forma de una unidad de dosis sólida separada incluyendo un sobre (por ejemplo, un polvo en un sobre), un comprimido, una cápsula dura o blanda, un sello,
25 una tableta o una pastilla para chupar, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de vitamina D y el agente como se especifica en el presente documento. Otras formulaciones adecuadas para administración oral incluyen una formulación en polvo o granulada, una suspensión acuosa u
30 oleosa, una solución acuosa u oleosa, o una emulsión. Como se usa en el presente documento, un líquido "oleoso" comprende

una molécula líquida que contiene carbono que presenta un carácter menos polar que el agua.

Es especialmente preferente que la unidad de dosis sólida
5 separada de la composición según la invención esté en forma de polvo, especialmente presentada en forma de sobre. Como se usa en el presente documento, el término "sobre" se refiere a una bolsa sellada que contiene la composición según la invención. La bolsa puede estar hecha de papel, papel encerado, papel
10 plastificado o una combinación de papel y papel de aluminio. El material a partir del cual se fabrica el sobre es preferentemente impermeable a la humedad ambiental y otros posibles contaminantes atmosféricos, de modo que, al sellar dicho sobre, la composición según la invención en forma de
15 polvo contenida en el mismo permanezca suelta hasta su uso.

Un comprimido que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente en cualquiera de las concentraciones anteriores, se puede hacer, por ejemplo, comprimiendo o
20 moldeando la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, con uno o más ingredientes adicionales. Se pueden preparar comprimidos que estén comprimidos comprimiendo, en un dispositivo adecuado, vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en forma suelta, tal como
25 una preparación en polvo o granulada, opcionalmente mezclada con uno o más de un aglutinante, un lubricante, un excipiente, un agente tensioactivo y un agente dispersante. Se pueden hacer comprimidos moldeados, por ejemplo, moldeando, en un dispositivo adecuado, vitamina D y el agente, como se define
30 anteriormente, un vehículo y al menos líquido suficiente para humedecer la mezcla.

Los excipientes aceptables usados en la fabricación de comprimidos incluyen, pero no se limitan a, diluyentes inertes, agentes de granulación y disgregantes, agentes aglutinantes y agentes lubricantes. Los agentes dispersantes conocidos incluyen, pero no se limitan a, almidón de patata y glicolato sódico de almidón. Los agentes tensioactivos conocidos incluyen, pero no se limitan a, lauril sulfato de sodio. Los diluyentes conocidos incluyen, pero no se limitan a, carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, celulosa microcristalina, fosfato de calcio, hidrogenofosfato de calcio y fosfato de sodio. Los agentes de granulación y disgregantes conocidos incluyen, pero no se limitan a, almidón de maíz y ácido algínico. Los agentes de unión conocidos incluyen, pero no se limitan a, gelatina, acacia, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona e hidroxipropilmetilcelulosa. Los agentes lubricantes conocidos incluyen, pero no se limitan a, estearato de magnesio, ácido esteárico, sílice y talco.

Los comprimidos pueden ser no recubiertos o se pueden recubrir usando procedimientos conocidos para lograr una disgregación retardada en el tubo digestivo de un sujeto, proporcionando de este modo una liberación y absorción mantenidas de la vitamina D y el agente como se define anteriormente. A modo de ejemplo, se puede usar un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo para recubrir los comprimidos. Los comprimidos pueden comprender además un agente edulcorante, un agente saborizante, un agente colorante, un conservante o alguna combinación de estos para proporcionar una preparación atractiva y agradable.

Se pueden hacer cápsulas duras que comprendan vitamina D y el agente, como se define anteriormente, usando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina o derivados de celulosa. Dichas cápsulas duras comprenden vitamina D y el
5 agente como se define anteriormente, y pueden comprender además ingredientes adicionales, incluyendo, por ejemplo, un diluyente sólido inerte tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín.

10 Se pueden hacer cápsulas de gelatina blandas que comprendan vitamina D y el agente, como se define anteriormente, usando una composición fisiológicamente degradable, tal como gelatina combinada con un plastificante (es decir, glicerol) como componente básico de la cubierta de gelatina blanda. Las
15 cápsulas de gelatina blanda pueden contener una solución líquida o semisólida, una suspensión o un preconcentrado de microemulsión. El relleno de la cápsula blanda comprende vitamina y el agente, como se define anteriormente, que se pueden mezclar con agua o un medio oleoso tal como aceite de
20 cacahuete, vaselina líquida, aceite de oliva, aceite de soja, aceite de girasol, una lecitina tal como, por ejemplo, lecitina de soja o lecitina de girasol, triglicéridos de cadena media, oleato de poliglicerol, cera de abejas, mono y diglicéridos de ácidos grasos, o combinaciones de cualquiera de los anteriores.
25 Las formulaciones líquidas que son especialmente adecuadas para administración oral se pueden preparar, envasar y vender en forma líquida o en forma de un producto seco destinado a su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de la ingestión.

30

Las suspensiones líquidas se pueden preparar usando procedimientos convencionales para lograr la suspensión del/de

los ingrediente(s) activo(s) en un vehículo acuoso u oleoso. Los vehículos acuosos incluyen, por ejemplo, agua y solución salina isotónica. Los vehículos oleosos incluyen, por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico, aceites

5 vegetales tales como aceite de cacahuete, oliva, sésamo o coco, aceites vegetales fraccionados y aceites minerales tales como vaselina líquida. Las suspensiones líquidas pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitarse a, agentes de suspensión, agentes dispersantes o

10 humectantes, agentes emulsionantes, emolientes, conservantes, tampones, sales, saborizantes, agentes colorantes y agentes edulcorantes. Las suspensiones oleosas pueden comprender además un agente espesante. Los agentes de suspensión conocidos incluyen, pero no se limitan a, jarabe de sorbitol, grasas

15 comestibles hidrogenadas, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma de tragacanto, goma de acacia y derivados de celulosa tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa. Los agentes dispersantes o humectantes conocidos incluyen, pero no se

20 limitan a, fosfátidos naturales tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileo con un ácido graso, con un alcohol alifático de cadena larga, con un éster parcial derivado de un ácido graso y un hexitol, o con un éster parcial derivado de un ácido graso y un anhídrido de hexitol (por

25 ejemplo, estearato de polioxietileno, heptadecaetilenoxicetanol, monooleato de polioxietilen sorbitol y monooleato de polioxietilen sorbitán, respectivamente). Los agentes emulsionantes conocidos incluyen, pero no se limitan a, lecitina y acacia. Los

30 conservantes conocidos incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo o n-propil para-hidroxibenzoatos, ácido ascórbico y ácido sórbico. Los agentes edulcorantes conocidos incluyen, por

ejemplo, glicerol, propilenglicol, sorbitol, sacarosa y sacarina. Los agentes espesantes conocidos para suspensiones oleosas incluyen, por ejemplo, cera de abejas, parafina sólida y alcohol cetílico.

5

Se pueden preparar formulaciones en polvo y granuladas de una composición adecuada para la aplicación en la presente invención, por ejemplo, una composición farmacéutica, usando procedimientos conocidos. Dichas formulaciones se pueden

10 administrar directamente a un sujeto, usar, por ejemplo, para formar sobres o comprimidos, para rellenar cápsulas o para preparar una suspensión o solución acuosa u oleosa mediante la adición de un vehículo acuoso u oleoso a la misma. Cada una de estas formulaciones puede comprender además uno o más de un

15 agente dispersante o humectante, un agente de suspensión y un conservante. También se pueden incluir excipientes adicionales, tales como cargas y agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes, en estas formulaciones.

20 Una composición también se puede preparar, envasar o vender en forma de emulsión de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal tal como aceite de oliva o de cacahuete, un aceite mineral tal como vaselina líquida o una combinación de estos. Dichas

25 composiciones pueden comprender además uno o más agentes emulsionantes tales como gomas naturales tales como goma de acacia o goma de tragacanto, fosfátidos naturales tales como fosfátido de soja o lecitina, ésteres o ésteres parciales derivados de combinaciones de ácidos grasos y anhídridos de

30 hexitol tales como monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno tales como monooleato de polioxietilen sorbitán. Estas

emulsiones también pueden contener ingredientes adicionales incluyendo, por ejemplo, agentes edulcorantes o saborizantes. Los procedimientos para impregnar o recubrir un material con una composición química son conocidos en la técnica e incluyen, 5 pero no se limitan a, procedimientos de depósito o unión de una composición química sobre una superficie, procedimientos de incorporación de una composición química a la estructura de un material durante la síntesis del material (por ejemplo, tal como con un material fisiológicamente degradable) y 10 procedimientos de absorción de una solución o suspensión acuosa u oleosa en un material absorbente, con o sin secado posterior.

b) Formulación adecuada para administración parenteral

15 Para la administración parenteral, una composición que comprenda vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se puede formular para inyección o infusión, por ejemplo, inyección o infusión intravenosa, intramuscular o subcutánea, o para administración en una dosis en bolo y/o infusión 20 continua. Se pueden usar suspensiones, soluciones o emulsiones en un vehículo oleoso o acuoso, que opcionalmente contenga otros agentes tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes tales como los mencionados anteriormente.

25 Una composición que comprenda vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se puede volver especialmente adecuada para administración parenteral mediante formulación con un vehículo aceptable, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones se pueden preparar, 30 envasar o vender en una forma adecuada para administración en bolo o para administración continua. Las formulaciones inyectables se pueden preparar, envasar o vender en una forma

farmacéutica unitaria, tales como ampollas, triturables o de otro modo, o en recipientes multidosis que contengan un conservante. Las composiciones especialmente adecuadas para administración parenteral incluyen, pero no se limitan a, 5 suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, pastas y formulaciones implantables de liberación mantenida o biodegradables. Dichas composiciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo, pero sin limitarse a, agentes de suspensión, 10 estabilizantes o dispersantes. En un modo de realización de una composición que es especialmente adecuada para administración parenteral, el ingrediente activo se proporciona en forma seca (por ejemplo, en polvo o granulada) para su reconstitución con un vehículo adecuado (por ejemplo, 15 agua estéril libre de pirógenos) antes de la administración parenteral de la composición reconstituida.

Una composición adecuada para su aplicación en la presente invención se puede preparar, envasar o vender en forma de una 20 suspensión o solución acuosa u oleosa inyectable estéril. Esta suspensión o solución se puede formular de acuerdo con la técnica conocida, y puede comprender, además del/de los ingrediente(s) activo(s), ingredientes adicionales tales como los agentes dispersantes, agentes humectantes o agentes de 25 suspensión descritos en el presente documento. Dichas composiciones inyectables estériles se pueden preparar usando un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, tal como agua o 1,3-butanodiol, por ejemplo. Otros diluyentes y solventes aceptables incluyen, pero no se limitan a, solución 30 de Ringer, solución isotónica de cloruro de sodio y aceites fijos tales como mono o diglicéridos sintéticos. Otras formulaciones habituales que se pueden administrar

parenteralmente incluyen aquellas que comprenden el ingrediente activo en forma microcristalina, en una preparación liposomal o como un componente de un sistema polimérico biodegradable. Las composiciones para liberación mantenida o implantación pueden comprender materiales poliméricos o hidrófobos aceptables tales como una emulsión, una resina de intercambio iónico, un polímero escasamente soluble o una sal escasamente soluble.

10 c) Formulación adecuada para administración transmucosa

Una composición que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se puede formular para que sea adecuada para administración transmucosa. La formulación puede incluir cualquier sustancia o unidad de dosificación adecuada para aplicación al tejido mucoso. Por ejemplo, el agente activo seleccionado se puede administrar a la mucosa bucal en un comprimido o parche adhesivo, administrar por vía sublingual colocando una forma farmacéutica sólida debajo de la lengua, administrar por vía lingual colocando una forma farmacéutica sólida sobre la lengua, administrar por vía nasal como microgotas o un pulverizador nasal, una formulación líquida sin aerosol, o un polvo seco, colocar dentro o cerca del recto (formulaciones "transrectales"), o administrar a la uretra como un supositorio, pomada o similar.

d) Formulación adecuada para administración vaginal o perivaginal

30 Una composición que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, también se puede formular para que sea especialmente adecuada para administración vaginal o

perivaginal. Las formas farmacéuticas adecuadas para este fin pueden incluir supositorios vaginales, cremas, pomadas, formulaciones líquidas, pesarios, tampones, geles, pastas, espumas o pulverizadores. El supositorio, crema, pomada, 5 formulación líquida, pesario, tampón, gel, pasta, espuma o pulverizador para administración vaginal o perivaginal comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del/de los agente(s) activo(s) seleccionado(s) y uno o más vehículos no tóxicos convencionales adecuados para administración vaginal o 10 perivaginal de fármacos. Las formas vaginales o perivaginales de la presente invención se pueden fabricar usando procedimientos convencionales como, por ejemplo, los divulgados en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, *supra*. La unidad de dosificación vaginal o perivaginal se puede 15 fabricar para disgregarse rápidamente o durante un período de varias horas. El período de tiempo para la disgregación completa puede estar en el intervalo de aproximadamente 10 minutos a aproximadamente 6 horas, por ejemplo, menos de aproximadamente 3 horas.

20

e) Formulación adecuada para formulaciones tópicas

Una composición que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, también se puede formular para que sea 25 especialmente adecuada para administración tópica. Las formas farmacéuticas adecuadas para este fin pueden incluir cualquier forma adecuada para su aplicación en la superficie del cuerpo, y pueden comprender, por ejemplo, una pomada, crema, gel, loción, solución, pasta o similares, y/o se pueden preparar 30 para que contengan liposomas, micelas y/o microesferas. En determinados modos de realización, las formulaciones tópicas en el presente documento son pomadas, cremas y geles.

f) Formulación adecuada para administración transdérmica

Una composición que comprende vitamina D y el agente, como se define anteriormente, también se puede formular para que sea especialmente adecuada para administración transdérmica. Como es conocido por el experto en la técnica, la administración transdérmica implica la entrega de compuestos por medio del paso percutáneo del compuesto a la circulación sistémica del paciente. Esto se puede efectuar, por ejemplo, por parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. Otros componentes además de la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se pueden incorporar también en los parches transdérmicos. Por ejemplo, las composiciones y/o parches transdérmicos se pueden formular con uno o más conservantes o agentes bacteriostáticos incluyendo, pero sin limitarse a, hidroxibenzoato de metilo, hidroxibenzoato de propilo, clorocresol, cloruro de benzalconio y similares. Las formas farmacéuticas de la composición según la invención para la administración tópica de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, pueden incluir cremas, pulverizadores, lociones, geles, pomadas, colirios, gotas nasales, gotas óticas y similares. En dichas formas farmacéuticas, los ingredientes de la composición según la invención se pueden mezclar para formar una crema o loción blanca, uniforme, homogénea y opaca con, por ejemplo, alcohol bencílico al 1 % o 2 % (p/p) como conservante, cera emulsionante, glicerina, palmitato de isopropilo, ácido láctico, agua purificada y solución de sorbitol. Además, las composiciones pueden contener polietilenglicol 400. Se pueden mezclar para formar pomadas con, por ejemplo, alcohol bencílico al 2 % (p/p) como conservante, vaselina filante, cera emulsionante y tenox II (hidroxianisol butilado, galato de propilo, ácido cítrico,

propilenglicol). Se pueden impregnar almohadillas tejidas o rollos de material de vendaje, por ejemplo, gasa, con las composiciones en solución, loción, crema, pomada u otra forma similar que también se pueden usar para aplicación tópica. Las composiciones también se pueden aplicar por vía tópica usando un sistema transdérmico, tal como uno de un adhesivo polimérico a base de acrílico con un agente de reticulación resinoso impregnado con la composición y laminado a un soporte impermeable.

10

Los ejemplos de materiales adhesivos de contacto con la piel adecuados incluyen, pero no se limitan a, polietilenos, polisiloxanos, poliisobutilenos, poliacrilatos, poliuretanos y similares. De forma alternativa, el depósito que contiene el fármaco y el adhesivo de contacto con la piel son capas separadas y distintas, estando el adhesivo subyacente al depósito que, en este caso, puede ser una matriz polimérica como se describe anteriormente, o puede ser un depósito líquido o de hidrogel, o adoptar alguna otra forma.

20

g) Formulación adecuada para administración intravesical

El término administración intravesical se usa en el presente documento en su sentido convencional para referirse a la entrega de un fármaco directamente a la vejiga. Se pueden encontrar procedimientos adecuados para la administración intravesical, por ejemplo, en las patentes de EE. UU. n.º 6.207.180 y 6.039.967.

La vitamina D y el agente, como se define anteriormente, también se pueden administrar de acuerdo con los usos médicos y los procedimientos de tratamiento descritos en el presente

documento en forma de un complemento, un producto alimenticio o de bebida que comprenda vitamina D y el agente como se define anteriormente.

5 Se debe entender que los usos descritos en el presente documento no necesitan cumplir ningún requisito reglamentario, por ejemplo, para la definición de una fármaco o de un complemento. Preferentemente, los usos descritos en el presente documento no son terapéuticos.

10

Como se usa en el presente documento, el término "complemento", o más en general "composición", se refiere a una composición destinada preferentemente a suministrar uno cualquiera o más de los ingredientes definidos anteriormente a un sujeto al que
15 le faltan dichos ingredientes en su dieta o que tiene, de otro modo, una deficiencia de dichos ingredientes y/o para inducir un efecto beneficioso para la salud, por ejemplo, previniendo, controlando y/o tratando cualquiera de las patologías, trastornos o síntomas definidos anteriormente.

20 Preferentemente, los complementos se formulan para su administración por vía oral, por ejemplo, como una píldora, cápsula, comprimido o líquido como se describe anteriormente.

Como se usa en el presente documento, el término "producto alimenticio" se refiere a una composición en forma de una
25 sustancia ingerible que, a la temperatura que se almacena e ingiere apropiadamente, está en forma sólida o semisólida, y que se masticará antes de tragarla. Como se usa en este documento, el término "producto de bebida" se refiere a una composición en forma de una sustancia ingerible que, a la

30 temperatura que se almacena e ingiere apropiadamente, está en una forma líquida suelta y que no se masticará antes de tragarla.

El producto alimenticio puede ser, en principio, cualquier producto alimenticio que haya sido procesado para que comprenda vitamina D y el agente como se define anteriormente para su administración. En el caso de que se administre vitamina D y el agente como se define anteriormente, el producto alimenticio comprenderá la vitamina D pertinente y el agente como se define anteriormente en la concentración prevista. Los ejemplos de dichos productos alimenticios incluyen una barra alimenticia, tal como una barra de chocolate, barra de muesli, barra de helado o barra energética; chicle; caramelo; un caramelo de menta; yogur; un gel comestible; una comida preparada, por ejemplo, una comida preparada liofilizada; un producto para untar; un pudín o un producto de fruta procesado, tal como un rollito de fruta o una barra de fruta. Los ejemplos de dichos productos de bebidas incluyen zumo de fruta o bebidas que contienen zumo de fruta, bebidas de productos lácteos, por ejemplo, bebidas que contienen leche o bebidas que contienen suero de mantequilla, bebidas que contienen suero de leche y bebidas que contienen yogur, bebidas energéticas, refrescos, bebidas de agua saborizada, etc.

El autor ha descubierto que la provisión de una determinada cantidad mínima de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en la composición según la invención puede ser ventajoso para garantizar que se pueda lograr el efecto terapéutico o profiláctico deseado en un número razonable de administraciones. Típicamente, se puede lograr un tratamiento o prevención exitosos de los fibromas mediante la administración diaria de un total de hasta aproximadamente 300 mg de EGCG total y aproximadamente 50 µg de vitamina D total. Sin embargo, desde el punto de vista del impacto de cualquier administración repetida en la calidad de vida del

paciente, puede ser ventajoso garantizar una cantidad mínima de vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en la composición para disminuir correspondientemente el número de administraciones diarias necesarias para alcanzar una cantidad
5 objetivo dada de dicha vitamina D y el agente, como se define anteriormente, por ejemplo, la cantidad objetivo de vitamina D y el agente como se define anteriormente indicada anteriormente.

10 Por lo tanto, los usos médicos y los procedimientos de tratamiento expuestos en el presente documento pueden implicar la administración en una administración combinada (por ejemplo, en un comprimido o en forma de polvo, por ejemplo, proporcionada en un sobre) al sujeto de tanto como:
15 aproximadamente 300 mg de agente como se define anteriormente y 50 µg de vitamina D, aproximadamente 150 mg de agente como se define anteriormente y 25 µg de vitamina D, aproximadamente 100 mg de agente como se define anteriormente y 20 µg de vitamina D, aproximadamente 75 mg de agente como se define
20 anteriormente y 17,5 µg de vitamina D, aproximadamente 50 mg de agente como se define anteriormente y 10 µg de vitamina D, 41,25 mg de agente como se define anteriormente y 6,9 µg de vitamina D, aproximadamente 5 mg de agente como se define anteriormente y 1 µg de vitamina D.

25

Un modo de realización de los usos médicos y los procedimientos de tratamiento expuestos en el presente documento también puede implicar la administración de aproximadamente 300 mg de agente como se define anteriormente y 50 µg de vitamina D, o entre
30 150 y 300 mg de agente como se define anteriormente y 25-50 µg de vitamina D en una administración cualquiera, por ejemplo, en cualquier administración combinada, al sujeto. Un modo de

realización de los usos médicos y los procedimientos de tratamiento expuestos en el presente documento puede implicar la administración de entre 5 y 1000 mg del agente como se define anteriormente y 1-100 μg de vitamina D en una
5 administración cualquiera, por ejemplo, en cualquier administración combinada, al sujeto. Otro modo de realización de los usos médicos y los procedimientos de tratamiento expuestos en el presente documento puede implicar la administración de aproximadamente 41,25 mg del agente como se
10 define anteriormente y 6,9 μg de vitamina D en una administración cualquiera, por ejemplo, en cualquier administración combinada, al sujeto.

En un modo de realización, si la vitamina D y el agente, como
15 se define anteriormente, se van a proporcionar para administración al sujeto en forma de polvo, es decir, en un sobre, puede comprender o consistir en aproximadamente 150 mg del agente como se define anteriormente y 25 μg de vitamina D, y esto se puede administrar al sujeto. En un modo de realización
20 relacionado, la vitamina D y el agente, como se define anteriormente, se pueden proporcionar para administración al sujeto en forma de polvo, por ejemplo, en un sobre, y la composición en polvo puede comprender aproximadamente 300 mg del agente como se define anteriormente y 50 μg de vitamina D,
25 y esto se puede administrar al sujeto. De forma alternativa, en un modo de realización, si la vitamina D y el agente como se define anteriormente se van a proporcionar para administración al sujeto en forma de una cápsula de gelatina blanda, puede comprender o consistir en aproximadamente 150 mg
30 del agente como se define anteriormente y 25 μg de vitamina D, y esto se puede administrar al sujeto. En un modo de realización relacionado, la combinación se puede proporcionar para

administración al sujeto en forma de una cápsula de gelatina blanda, y la combinación en la cápsula de gelatina blanda puede comprender 41,25 mg del agente como se define anteriormente y 6,9 µg de Vitamina D, y esto se puede administrar al sujeto.

5 Especialmente los últimos modos de realización que comprenden administrar aproximadamente 150 mg del agente como se define anteriormente y 25 µg de vitamina D son especialmente ventajosos porque alcanzan una cantidad objetivo diaria con una dosis única.

10

Las siguientes cantidades y combinaciones representan modos de realización preferentes de la presente invención:

- aproximadamente 5-1000 mg del agente como se define
15 anteriormente y 1-100 µg de vitamina D;
- aproximadamente 10-500 mg del agente como se define
anteriormente y 5-70 µg de vitamina D;
- aproximadamente 50-150 mg del agente como se define
anteriormente y 10-60 µg de vitamina D;
- 20 • aproximadamente 100-300 mg del agente como se define
anteriormente y 25-50 µg de vitamina D;
- aproximadamente 120-180 mg del agente como se define
anteriormente, en particular, 150 mg de EGCG ±20 %;
- aproximadamente 25 µg de vitamina D;
- 25 • aproximadamente 150 mg del agente como se define
anteriormente y 25 µg de vitamina D;
- aproximadamente 41,25 mg del agente como se define
anteriormente y 6,9 µg de vitamina D;
- aproximadamente 82,5 mg del agente como se define
30 anteriormente y aproximadamente 13,8 µg de vitamina D;

- aproximadamente 150 mg del agente como se define anteriormente, 5 mg de vitamina B₆ y 25 µg de vitamina D;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 6000;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 50-1: 1.000.000;
- aproximadamente 150 mg del agente como se define anteriormente y 60 µg de vitamina D;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 2500;
- aproximadamente 300 mg del agente como se define anteriormente y 100 µg de vitamina D;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 3000;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 50;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 1.000.000;
- vitamina D y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 2000 a 1: 7000;
- vitamina D y el agente como se define anteriormente en una proporción en peso de aproximadamente 1: 100-1: 100.000;
- vitamina D, vitamina B₆ y el agente, como se define anteriormente, en una proporción en peso de aproximadamente 1: 200: 6000.

30

Lo siguiente proporciona varios ejemplos que ilustran diversos modos de realización de la presente invención, y los efectos

técnicos y ventajas que logra. Se debe entender que los siguientes ejemplos se presentan solo con fines ilustrativos y no limitan la invención reivindicada. De hecho, el experto en la técnica podrá realizar fácilmente otros modos de realización dentro del espíritu y alcance de la invención reivindicada mientras logra las ventajas técnicas descritas.

Ejemplos

Los autores de la invención han descubierto que la administración de vitamina D y un agente tal como EGCG puede prevenir/controlar/tratar los fibromas, en particular, fibromas uterinos, causados, por ejemplo, por la familiaridad, la edad, el origen étnico, la obesidad, la actividad hormonal, etc. Esto representa un nuevo e inesperado enfoque para la prevención/control/tratamiento de los fibromas.

Ejemplo 1: Composición 1

Una primera composición ejemplar de la presente invención está en forma de un comprimido redondo (10 mm de diámetro), que pesa aproximadamente 500 mg, con un período de validez esperado de 24 meses, y que tiene la siguiente composición:

Tabla 1. Composición 1

Ingrediente	mg/comprimido	Aporte por comprimido
Extracto de hojas de té verde (<i>Camellia Sinensis</i>) 95 % de polifenoles 45 % de EGCG	333,35	150 mg of EGCG
Celulosa microcristalina	89,37	
Fosfato de calcio	45,00	

Vitamina D ₃ (1000 UI)	11,11	25 µg
Vitamina B ₆ (clorhidrato de piridoxina)	6,02	5 mg
Estearato de magnesio	5,00	
Dióxido de silicio	5,00	
Peso total mg	500	

Ejemplo 2: Composición 2

Una segunda composición ejemplar de la presente invención está en forma de un comprimido redondo (10 mm de diámetro), con un período de validez esperado de 24 meses, y tiene la siguiente composición:

Tabla 2. Composición 2

Ingrediente	mg/comprimido	Aporte por comprimido
Extracto de hojas de té verde 45 % en EGCG	333,35	150 mg of EGCG
Vitamina B ₆ HCl	7,8	5 mg
Vitamina D ₃	14,5	25 µg
Fosfato dicálcico	40	
Celulosa microcristalina	84,35	
Estearato de magnesio	15	
Dióxido de silicio	5	
Total mg	500 mg	

10

Cabe señalar que, en el presente ejemplo, el intervalo de tolerancia para el título de EGCG es 120-180 mg/comprimido (150 ± 20 %).

15

La cantidad de ingrediente indicada en la columna "mg/comprimido" de la tabla 1 y 2 se refiere a la cantidad de ingrediente usada para preparar un comprimido. La cantidad de

ingrediente indicada en la columna "aporte por comprimido" de la tabla 1 y 2 se refiere a la cantidad de ingrediente presente en un comprimido. Las sobredosis aplicadas a las vitaminas B₆ y D₃ están relacionadas con los siguientes factores:

5

- título inicial de la materia prima;
- forma química inicial del sustrato molecular;
- pérdida de sustancia durante el proceso de producción.

10 Es aconsejable administrar uno o dos comprimidos de Composición 1 o 2 al día.

Ejemplo 3: Evaluación *in vitro* de las propiedades antifibróticas del galato de epigallocatequina y la vitamina D₃,

15 solos o en combinación

Materiales y procedimientos

Las propiedades antifibróticas del galato de epigallocatequina
 20 (EGCG) y la vitamina D₃ (solos o en combinación) se han sometido a prueba de forma preliminar en fibroblastos humanos normales en cultivos 2D. Los fibroblastos humanos normales usados en este experimento son cultivos de células primarias. Para descartar cualquier efecto sobre la viabilidad de los
 25 fibroblastos, también se investigó la proliferación y la apoptosis.

Cultivo de fibroblastos: DMEM, FBS al 10 %, L-Glu al 1 %, Pen/strep al 1 % durante 18 días;

30 Se permitió que los fibroblastos crecieran en el cultivo de fibroblastos anterior durante 18 días hasta alcanzar una confluencia de un 50 %. A continuación, se fomentó el proceso

fibrótico añadiendo 10 ng/ml de TGF- β 1 (Peprotech, n.º de cat. 100-21-10UG). 24 horas después de la adición de TGF- β 1, se lavaron a fondo los fibroblastos con PBS, medio de cultivo de fibroblastos fresco y se añadieron las fórmulas a continuación.

5 A los fibroblastos se les permitió crecer a continuación durante 24 horas adicionales.

Las fórmulas son como sigue:

- 10 - Vitamina D₃ (colecalfiferol, número CAS 67-97-0): 0,005 µg/ml en DMSO. Se disolvió vitamina D₃ en DMSO y después de eso se hicieron diluciones adicionales en PBS. Esencialmente, las células reciben la misma "dosis" de DMSO, esto permite una comparación clara de la prueba. En este caso, se usó DMSO
- 15 1:10000;
- EGCG (EXTRACTO SECO DE TÉ VERDE 95 % POLIFENÓLES; número CAS 84650-60-2): 0,03 mg/ml en H₂O;
- tratamiento combinado: EGCG 0,03 mg/ml + vitamina D₃ 0,005 µg/ml;
- 20 - control: solo vehículo (DMSO);

Se midió la liberación de fibronectina y colágeno mediante inmunoelectrotransferencia para evaluar el efecto antifibrótico. Los resultados se informan como unidades de DO

25 arbitrarias. Cuando el tratamiento se detuvo, 24 horas después de la adición del tratamiento, se congelaron las células a -80 °C durante la noche. Al día siguiente se realizó la extracción de proteínas y, posteriormente, la inmunoelectrotransferencia.

30

Se realizó un análisis estadístico. Los resultados son significativos con respecto a los tratamientos individuales.

Resultados

- Fase I del estudio

La adición de vitamina D₃ sola, EGCG solo o la combinación de
 5 vitamina D₃ y EGCG no modifica significativamente ni la tasa
 de proliferación de fibroblastos ni su viabilidad (datos no
 mostrados). La morfología celular no cambia significativamente
 entre las células tratadas y de control tratadas con TGF-β1.

10 En los fibroblastos de control, se ha observado un ligero
 incremento en la liberación de fibronectina y colágeno después
 de 24 horas de cultivo en medio convencional (FIG. 1 y 2). Este
 ligero incremento se puede considerar una reacción no
 específica al entorno de cultivo.

15

En las células tratadas con vitamina D₃, la vitamina D₃
 incrementa ligeramente el depósito de fibronectina, al tiempo
 que reduce significativamente la liberación de colágeno (FIG.
 1 y 2).

20

En las células tratadas con EGCG, el EGCG reduce
 significativamente la liberación de fibronectina y colágeno
 (FIG. 1 y 2).

25

La asociación de vitamina D₃ + EGCG disminuye
 significativamente (en comparación con los tratamientos
 individuales) la liberación de fibronectina y colágeno en
 fibroblastos cultivados (FIG. 1 y 2).

30

Los componentes que contribuyen a la mayoría del volumen en
 los fibromas son la fibronectina y el colágeno; por lo tanto,

la reducción de la producción y el depósito de estas dos proteínas puede disminuir el tamaño de los fibromas.

- Fase II del estudio

5

La liberación de fibronectina y colágeno de los fibroblastos se analizó a las 24 horas después de la adición de EGCG o vitamina D₃ en fibroblastos previamente estimulados, como se describe anteriormente. Para establecer una relación dosis-
10 respuesta, se sometieron a prueba diferentes concentraciones (1-100 µg/l de vitamina D₃ en DMSO; 0,5-10 mg/l de EGCG en H₂O) de ambos compuestos. Estas concentraciones *in vitro* se pueden considerar representativas de dosis *in vivo* de 1-100 µg al día de vitamina D y 5-1000 mg al día de EGCG.

15

Los datos se informan en las FIGS. 3 AB y 4 AB y se expresan como número de veces de disminución de unidades de DO con respecto al valor de control, que se obtuvo para los fibroblastos después de 24 horas de estimulación con TGF-β1
20 (por ejemplo, una disminución de un 50 % entre dos medidas se referiría a la "la mitad del factor de multiplicación"). El factor de multiplicación es una medida que describe cuánto cambia una cantidad entre una medición original y una posterior. Se define como la proporción entre las dos
25 cantidades; para las cantidades A y B, entonces, el factor de multiplicación de B con respecto a A es B/A.

La figura 3A muestra que las concentraciones de vitamina D₃ (en particular de 5 µg/l a 100 µg/l) tienen efecto sobre la
30 reducción de fibronectina. La figura 3B muestra que las concentraciones de EGCG (en particular, de 5 mg/l a 10 mg/l) tienen efecto sobre la reducción de fibronectina.

La figura 4A muestra que las concentraciones de vitamina D₃ (en particular ,de 5 µg/l a 100 µg/l) tienen efecto sobre la reducción de colágeno. La figura 4B muestra que las concentraciones de EGCG (en particular, de 3 mg/l a 10 mg/l) tienen efecto sobre la reducción de colágeno.

También se observó un efecto aditivo y/o sinergia al comparar la FIG. 5 con la FIG. 3 y la FIG. 6 con la FIG. 4.

10 Ejemplo 4: Estudio clínico

Pacientes y procedimientos

Se llevó a cabo un estudio clínico entre marzo y octubre de 2019, en el Hospital de Orvieto. Todos los participantes dieron su consentimiento informado después de la explicación del propósito del estudio. Se siguieron los principios éticos de la Declaración de Helsinki y las leyes nacionales. Criterios de inclusión: 18 años de edad o más, en etapa premenopáusica, con al menos un mioma de ≥ 2 cm³ (intraparietal, subseroso y/o submucoso) detectado por ecografía vaginal y abdominal, con síntomas relacionados con el mioma moderadamente intensos, y que no requiera tratamiento diferente a la observación regular. Criterios de exclusión: mujeres embarazadas o con la intención de quedarse embarazadas durante los próximos cuatro meses, actualmente en período de lactancia, con anemia grave o morbilidad médica, idóneas para cirugía, enzimas hepáticas elevadas, tratamiento (en los últimos 3 meses) con hormonas (estrógeno, gestágenos, anticonceptivos orales), corticosteroides, complementos alimenticios que tienen posibles efectos hormonales, uso de moduladores selectivos del receptor de progesteronas (SPRM) o análogos de la hormona

liberadora de gonadotropina (GnRH) en los últimos 6 meses. Los
 pacientes se dividieron en dos grupos: un grupo (15 pacientes)
 tratado diariamente por vía oral con 25 µg de vitamina
 D + 150 mg de EGCG + 5 mg de vitamina B₆, dos veces al día,
 5 durante 4 meses. El segundo grupo (15 pacientes) no recibió
 tratamiento (control), durante 4 meses. El criterio principal
 de valoración fue el cambio de volumen del mioma analizado por
 ecografía transvaginal (ETV) y/o ecografía transabdominal con
 el ecógrafo Voluson™ E8 (GE Healthcare). Los criterios
 10 secundarios de valoración fueron la variación del número de
 miomas, malestar por sangrado durante el período menstrual,
 sensación de presión en el área pélvica y sensación de fatiga,
 así como calidad de vida (CdV) y la intensidad de los síntomas
 (IS). La CdV y la IS se midieron como se describe en Spies et
 15 al., The UFS-QOL, a New Disease-Specific Symptom and Health-
 Related Quality of Life Questionnaire for Leiomyomata. The
 American College of Obstetricians and Gynecologists. VOL. 99,
 n.º 2, 2002. Cuanto mayor sea la puntuación, mejor será la CdV
 en relación con la salud. Cuanto más baja es la puntuación,
 20 más baja es la IS. La experiencia subjetiva de sangrado se
 indicó como abundante, media y normal, a través de una
 evaluación de sangrado rellenada por la paciente. Se recopiló
 la anamnesis completa de todas las mujeres; se realizó una
 exploración física cuidadosa, evaluación instrumental mediante
 25 ecografía y compilación de cuestionarios al inicio del estudio
 (T₀) y después de 4 meses (T₁). De todos los miomas
 identificados, el volumen total de los miomas se calculó
 mediante el ecógrafo Voluson™ E8 (GE Healthcare).

30 *Análisis estadístico*

El análisis estadístico se realizó mediante la prueba de la T para datos independientes (2018 GraphPad Software, La Jolla, CA, EE. UU.), al comparar dos grupos, con los resultados expresados como media ± error estándar de la media (EEM). Las comparaciones para medidas repetidas se evaluaron para el análisis intragrupo por ANOVA unidireccional: los valores se indican como media ± EEM.

La prueba de Wilcoxon-Mann-Whitney se usó para los análisis de la CdV y la IS: los valores se indican como mediana, percentil 25 y 75. La significación estadística fue aceptada al nivel del valor de $p \leq 0,05$.

Resultados

Se incluyeron 30 mujeres con miomas de entre 28 y 46 años. Las características clínicas de las pacientes por grupo al inicio del estudio (T_0) se ilustran en la tabla 3.

Tabla 3. Características clínicas de las pacientes por grupo al inicio del estudio.

	Tratadas T_0 <i>Media ± EEM</i>	Control T_0 <i>Media ± EEM</i>	Valor de p
<i>Edad</i>	37,27 ± 1,15	37,67 ± 1,71	0,8475
<i>Estatura</i>	165,73 ± 1,78	167,73 ± 1,09	0,3469
<i>Peso</i>	62,13 ± 2,21	64,00 ± 1,64	0,5023
<i>IMC (kg/m²)</i>	22,67 ± 0,64	22,72 ± 0,49	0,9542
<i>N.º de miomas</i>	23	21	
<i>Media del n.º de miomas</i>	1,53 ± 0,19	1,40 ± 0,19	0,6256
<i>Volumen de miomas cm³</i>	10,84 ± 1,16	10,17 ± 1,43	0,7188

IS	22,67 ± 1,76	27,13 ± 2,04	0,1086
CdV	91,60 ± 5,55	84,93 ± 6,13	0,4270

Las características iniciales de los pacientes en los dos grupos (tratados con vitamina D + EGCG frente a control). Los grupos estaban bien emparejados, sin diferencias significativas. Un valor de p de $\leq 0,05$ fue considerado estadísticamente significativo. Todos los datos resultaron no significativos. Abreviaturas: CdV, calidad de vida; EEM, error estándar de la media; IMC, índice de masa corporal; IS, intensidad de los síntomas.

10

En T_0 , los dos grupos fueron similares para todos los parámetros. No se registraron abandonos en ninguno de los grupos. No se observaron efectos adversos atribuibles al tratamiento durante todo el período de estudio. El número total de miomas en el grupo tratado y de control fue de 23 y 21, respectivamente. En el grupo tratado, la incidencia de miomas intraparietales, subserosos y submucosos fue de un 43,75 %, un 12,5 %, un 43,75 % respectivamente. En el grupo de control, un 47,4 % eran intraparietales, un 10,5 % subserosos y un 42,1 % submucosos. Se observó una reducción significativa en el volumen de miomas (de $10,84 \pm 1,16 \text{ cm}^3$ al inicio del estudio a $8,04 \pm 0,85 \text{ cm}^3$ después de 4 meses de tratamiento, $p < 0,0001$) en el grupo tratado (FIG. 7), correspondiente a una reducción de un 34,7 % del volumen de los miomas. La reducción de volúmenes fue independiente del tipo de miomas. En el grupo de control, los volúmenes de los miomas fluctuaron significativamente de $10,17 \pm 1,43 \text{ cm}^3$ en T_0 , a $10,94 \pm 1,50 \text{ cm}^3$ después de la observación del periodo de 4 meses ($p < 0,001$) correspondiente a un incremento del volumen de los miomas de un 6,9 % (FIG. 7). Se observa una tendencia

hacia la significación entre los volúmenes de los miomas de los tratados frente a los controles en T_1 ($p = 0,0930$). El número de miomas no cambió, de T_0 a T_1 , ni en el grupo tratado ni en el de control, mostrando una media $\pm$ EEM variable (1,53 $\pm$ 0,19 en el grupo tratado y 1,40 $\pm$ 0,19 en el grupo de control, con una diferencia no significativa entre los grupos) (Tabla 3). En la tabla 4 se ilustra la incidencia de los principales síntomas relacionados con los miomas expresados en porcentaje (%) en T_0 y T_1 , en el grupo tratado y en el de control. Los cambios de T_0 a T_1 en la CdV en el grupo tratado mostraron un incremento (31, valor de la mediana), mientras que el grupo de control mostró una pequeña disminución (-1, valor de la mediana) y hubo una diferencia estadísticamente significativa de los cambios de T_0 a T_1 entre los dos grupos ($p < 0,0001$) (FIG. 9A). Los cambios de T_0 a T_1 en la IS en el grupo tratado mostraron una reducción (-7, valor de la mediana, correspondiente a una reducción de un 47 % de la IS), mientras que el grupo de control no mostró variación (0, valor de la mediana) y hubo una diferencia estadísticamente significativa de los cambios de T_0 a T_1 entre los dos grupos ($p < 0,0001$) (FIG. 9B). A continuación, se descubrió una mejora significativa en todos los aspectos de CdV e IS, incluyendo las actividades diarias, la función sexual, el sangrado y el dolor ginecológico.

25

Tabla 4. Incidencia de número, tipo de miomas y síntomas correlacionados en la visita 1 y la visita 2.

Tratados		Control	
T_0	T_1	T_0	T_1
<i>n.º de</i>	<i>n.º de</i>	<i>n.º de</i>	<i>n.º de</i>
<i>pacientes (%)</i>	<i>pacientes (%)</i>	<i>pacientes (%)</i>	<i>pacientes (%)</i>

<i>Miomas intraparietales</i>	7 (43,75 %)	7 (43,75 %)	9 (47,4 %)	9 (47,4 %)
<i>Miomas subserosos</i>	2 (12,5 %)	2 (12,5 %)	2 (10,5 %)	2 (10,5 %)
<i>Miomas submucosos</i>	7 (43,75 %)	7 (43,75 %)	8 (42,1 %)	8 (42,1 %)
<i>Sangrado normal</i>	3 (20 %)	5 (33,3 %)	3 (20 %)	3 (20 %)
<i>Sangrado abundante</i>	8 (53,3 %)	0 (0 %)	6 (40 %)	6 (40 %)
<i>Sangrado medio</i>	4 (26,7 %)	10 (66,7 %)	6 (40 %)	6 (40 %)
<i>Fatiga</i>	10 (66,7 %)	3 (20 %)	8 (53,3 %)	8 (53,3 %)
<i>Dolor ginecológico</i>	8 (53,3 %)	1 (6,7 %)	8 (53,3 %)	8 (53,3 %)

La incidencia se expresa como el porcentaje (%) de sujetos que tienen el tipo de mioma o los síntomas correlacionados en cada grupo en los dos puntos temporales (T_0 inicial o T_1 , después de 5 4 meses); n, número de sujetos.

En conclusión, el aporte complementario oral de vitamina D en combinación con EGCG tiene un impacto considerable en la salud reproductiva de las mujeres. De hecho, esta combinación puede 10 evitar los tratamientos quirúrgicos, lo que permite a las mujeres mantener la fertilidad y prevenir complicaciones a nivel ginecológico. La presente combinación es apropiada para mejorar la CdV y reducir la IS. Además, estos hallazgos indican que la vitamina D y EGCG se podrían usar para tratar los miomas 15 para prevenir un posible incremento de tamaño, controlando de este modo el fibroma. Adicionalmente, la vitamina D y EGCG se podrían administrar junto con otro tratamiento farmacológico, o como pretratamiento antes de la cirugía; esto podría ayudar a los pacientes a reducir los efectos secundarios y los 20 posibles volúmenes altos de miomas que pueden complicar la cirugía e incrementar los riesgos.