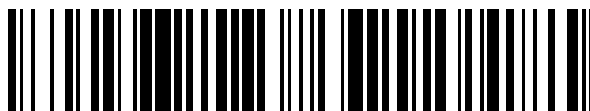


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 378 656**

51 Int. Cl.:
A61K 31/198 (2006.01)
A61K 36/185 (2006.01)
A61K 31/7084 (2006.01)
A61P 15/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09728678 .5**
96 Fecha de presentación: **10.03.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2257283**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.12.2010**

54 Título: **L-citrulina para tratar la disfunción eréctil**

30 Prioridad:
02.04.2008 IT MI20080567

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2012

73 Titular/es:
Androsystems S.R.L.
Via Cagliari 11
00198 Roma, IT

72 Inventor/es:
GRECO, Ermanno

74 Agente/Representante:
BELTRÁN GAMIR, Pedro

ES 2 378 656 T3

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

DESCRIPCIÓN

Campo técnico

La presente invención hace referencia a L-citrulina a una dosis igual a 6 g/día y su compuesto farmacéutico para tratar la disfunción eréctil.

5 Estado de la técnica

Es ahora universalmente reconocido que la disfunción endotelial, una alteración de los procesos bioquímicos normales realizados normalmente por el tejido endotelial que provoca graves desórdenes vasculares y particularmente la disfunción eréctil masculina, es debida a la biodisponibilidad local reducida de óxido nítrico (NO), la sustancia vasodilatadora endógena por excelencia.

10 La producción de óxido nítrico ocurre empezando a partir de un aminoácido semiesencial, L-arginina, que es convertido en óxido nítrico y citrulina por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS). Hay tres isoformas de esta enzima, designadas respectivamente por los acrónimos NOS1 (neuronal), NOS2 (inducible) y NOS3 (endotelial).

15 El óxido nítrico, una vez producido, entra en la célula del músculo liso, donde activa una enzima particular conocida como guanilil ciclasa soluble (sGC), con un consiguiente aumento de la cantidad de guanosina monofosfato cíclica intracelular (cGMP), reducción en la concentración del ion Ca^{2+} , y la consiguiente vasodilatación.

En vista de lo anterior, hay tres formas hipotéticas de actuar sobre la disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico: aumentar la biodisponibilidad del precursor del óxido nítrico, es decir, L-arginina; aumentar la actividad de enzimas NOS; y aumentar la concentración de cGMP intracelular.

20 El aminoácido semiesencial L-arginina es derivado principalmente de la comida y sólo el 5-15% de síntesis de novo. Varios estudios metabólicos han demostrado que tras la administración oral, la L-arginina es sometida a una eliminación masiva sistémica y presistémica por las bacterias intestinales y por las arginasas presentes en el intestino y el hígado. Un estudio experimental reciente, en el que fue administrado un isótopo radiactivo de L-arginina, mostró que sólo el 1% de la dosis administrada es utilizado como un precursor por NOS, principalmente debido al intenso metabolismo intestinal. Además, se ha demostrado científicamente que la administración de L-arginina produce niveles sanguíneos de este aminoácido que están caracterizados por una vida media corta, un factor que limita gravemente la posibilidad de que la L-arginina realice un efecto terapéutico satisfactorio. Otra limitación para la administración oral de elevadas dosis de L-arginina es la presencia de inhibidores endógenos de la reacción para la conversión de L-arginina en óxido nítrico por NOS. Estos inhibidores empujan la curva de actividad de la reacción de la enzima hacia niveles mayores de L-arginina que los administrados, un efecto reconocido científicamente como un "efecto paradoja".

30 La dimetilarginina asimétrica (ADMA) es un inhibidor endógeno de las tres isoformas NOS. La ADMA normalmente circula en la sangre a dosis bajas, pero un aumento llamativo suyo es observado en sujetos afectados por la disfunción endotelial y en particular por la disfunción eréctil o en sujetos que reciben una administración excesiva de L-arginina. Se ha demostrado científicamente que la relación entre la L-arginina y la ADMA es uno de los factores claves en la producción de óxido nítrico por NOS.

35 De modo acorde, la administración oral de L-arginina es incapaz de aumentar la producción endógena del óxido nítrico debido a la baja absorción de este aminoácido causada por: el intenso catabolismo al que es sometido en el intestino; su corta vida media; y la dificultad para modificar la relación L-arginina/ADMA.

40 Actualmente, la terapia para la disfunción eréctil se basa sustancialmente en la administración de inhibidores de la fosfodiesterasa-5 (PDE5). Los medicamentos que contienen ingredientes activos capaces de inhibir la PDE5 actúan aumentando la biodisponibilidad de cGMP en el nivel de la célula del músculo liso, inhibiendo su catabolismo operado por PDE5. Sin embargo, estos medicamentos actualmente son incapaces de aumentar la síntesis de óxido nítrico y por lo tanto se consideran medicamentos "bajo pedido" que llevan a un aumento temporal de la funcionalidad eréctil.

45 WO2006/002096 mostró a la L-citrulina como el único agente para el tratamiento de la disfunción eréctil. La dosis de L-citrulina fue hasta 3 g al día.

50 Como alternativa, se están probando terapias para tratar la disfunción eréctil mediante la inserción directa del gen NOS en el nivel celular endotelial del pene. Este procedimiento de terapia genética utiliza vectores bacterianos para transferir el gen NOS y hasta ahora ha demostrado ser válido para mejorar la función eréctil en ratas. Sin embargo, tal método aún no ha sido desarrollado lo suficiente para su uso en humanos; además, recurrir a procedimientos de terapia genética, y en particular al uso de vectores bacterianos, es un enfoque que podría ser mas difícil de aceptar para un paciente respecto a la administración de un medicamento.

Por lo tanto, existe la necesidad de un medicamento que pueda curar la disfunción eréctil aumentando la cantidad de óxido nítrico producido por el cuerpo.

Explicación de la invención.

El objetivo de la presente invención es proveer un medicamento que pueda curar la disfunción eréctil cuando ocurra mediante un aumento de la producción endógena de óxido nítrico y que no requiere la administración ad hoc para obtener un aumento momentáneo de óxido nítrico.

5 Dentro de este objetivo, un objeto de la invención es proveer un medicamento que sea capaz de actuar de una forma diferenciada pero simultánea sobre los procesos bioquímicos normales que regulan la síntesis endógena del óxido nítrico.

Otro objeto de la invención es proveer un medicamento que produzca un aumento de la biodisponibilidad de L-arginina.

10 Aún otro objeto de la presente invención es proveer un medicamento que pueda inducir la actividad de óxido nítrico sintetas (NOS).

Finalmente, un objeto de la presente invención es proveer un medicamento que pueda aumentar la penetración de la L-arginina en el nivel intracelular endotelial.

Otros objetos, características y ventajas de la invención serán descritos en la siguiente descripción detallada.

15 Este objetivo y estos y otros objetos que resultarán aparentes de mejor modo a continuación se consiguen mediante la L-citrulina para el tratamiento de la disfunción eréctil.

Este objetivo y objetos de la invención también se consiguen mediante un compuesto farmacéutico que comprende L-citrulina en combinación con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en el extracto acuoso de *Viscum album* y dinucleótido fosfato de nicotinamida y adenina (NADPH).

Formas de realizar la invención

20 Sin pretender estar limitado a cualquier teoría en particular, se cree que la acción terapéutica de la L-citrulina en el tratamiento de la disfunción endotelial es debida al hecho de que este aminoácido no esencial no sufre una eliminación presistémica. De hecho se cree que la L-citrulina sufre un metabolismo sistémico, durante el cual es convertida por la enzima L-argininosuccinato sintasa en L-argininosuccinato, que a su vez es descompuesto por la enzima L-argininosuccinasa para producir L-arginina. Desde este punto de vista, la L-citrulina puede considerarse como el precursor natural de L-arginina. De hecho la L-citrulina permite indirectamente aumentar la biodisponibilidad y la vida media de plasma de L-arginina, puesto que a diferencia de la L-arginina no sufre un intenso catabolismo intestinal.

25 El inventor de la presente invención de este modo ha descubierto que la administración de L-citrulina a una dosis igual a 6 g/día es capaz de curar la disfunción eréctil.

30 Otro ejemplo de realización de la presente invención consiste en otra combinación de L-citrulina para el tratamiento de la disfunción eréctil con el extracto acuoso de *Viscum album*.

Viscum album es una planta conocida por el nombre más común de muérdago. El extracto acuoso de esta planta ha demostrado ser capaz de inducir una sobreexpresión de enzimas NOS2 y NOS3 al nivel de las células musculares de cobayas a las que se les ha administrado.

35 El inventor de la presente invención ha descubierto que recurrir a una combinación de L-citrulina con extracto de *Viscum album* permite aumentar la cantidad y actividad de NOS endógeno, con una consiguiente mayor producción de óxido nítrico.

Otro ejemplo de realización de la presente invención también consiste en otra combinación de L-citrulina para el tratamiento de la disfunción eréctil con dinucleótido fosfato de nicotinamida y adinina (NADPH).

40 Cofactores de enzima tales como NADPH son sustancias cuya presencia es requerida para la actividad bioquímica óptima de algunas enzimas. En particular, en el caso de la reacción para la producción de óxido nítrico a partir de L-arginina, las enzimas NOS utilizan NADPH y tetrahidrobiopterina como cofactores esenciales.

El inventor de la presente invención ha descubierto que recurrir a una combinación de L-citrulina con NADPH permite favorecer la actividad de NOS y de modo acorde la producción de óxido nítrico.

45 Además, es sabido que el aumento de niveles sanguíneos de homocisteína reduce la penetración endotelial de L-arginina y que en un paciente con disfunción eréctil, los niveles sanguíneos de homocisteína aumentan. El ácido fólico, un cofactor de las enzimas involucradas en la síntesis de la homocisteína, tiene una acción específica en reducir los valores de homocisteína.

Por lo tanto, en un ejemplo de realización de la presente invención, la L-citrulina por si sola o en combinación con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en extracto acuosos de *Viscum album* y NADPH puede

estar caracterizada por el hecho de que el tratamiento de la disfunción eréctil ocurre mediante el aumento simultáneo en los niveles de L-arginina y óxido nítrico sintasa (NOS).

5 En un ejemplo de realización de la presente invención, la L-citrulina es administrada en una cantidad igual a 6 g/día. Por ejemplo, la administración diaria de L-citrulina puede dividirse en dos dosis de 3 gramos cada una o en tres dosis de 2 gramos cada una.

Además, la L-citrulina para tratar la disfunción eréctil puede utilizarse también en combinación con otros medicamentos ya conocidos para el tratamiento de la disfunción eréctil, por ejemplo medicamentos que contienen inhibidores PDE5.

10 En otro aspecto, la presente invención hace referencia también a un compuesto farmacéutico caracterizado por el hecho de que comprende L-citrulina en combinación con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en extracto acuoso de *Viscum album* y NADPH.

Por supuesto, el compuesto farmacéutico de la presente invención puede comprender además uno o más excipientes utilizados generalmente en la práctica farmacéutica.

15 Además, el compuesto puede asumir cualquier formulación adecuada para su administración a un paciente afectado por disfunción eréctil. Por ejemplo, el compuesto según la invención puede estar en forma de polvo, cápsulas o sobres.

El inventor de la presente invención ha descubierto que el compuesto farmacéutico descrito aquí es efectivo particularmente en el tratamiento de la disfunción eréctil, y por lo tanto en un ejemplo de realización preferido el compuesto farmacéutico según la invención puede ser utilizado en el tratamiento de la disfunción eréctil.

20 La presente invención hace referencia al tratamiento de la disfunción eréctil administrando L-citrulina a un paciente, opcionalmente en combinación con una o más sustancias seleccionadas del grupo que consiste en extracto acuoso de *Viscum album* y NADPH.

Preferiblemente, el método según la invención puede proveer la administración oral de L-citrulina.

25 Además, en el método según la invención la L-citrulina es administrada en una cantidad igual a 6 g/día. Por ejemplo, la administración diaria de L-citrulina puede dividirse en dos dosis de 3 gramos cada una o tres dosis de 2 gramos cada una.

30 La efectividad de la administración de la L-citrulina en el tratamiento de la disfunción eréctil ha sido verificada realizando un estudio prospectivo aleatorizado en 20 pacientes, durante el cual la L-citrulina fue administrada oralmente con una dosis de 6 g/día, en dos dosis separadas de 3 gramos, a pacientes afectados por disfunción eréctil. Como comparación, un segundo grupo de pacientes recibió una administración de L-arginina igual a 3 g/día divididos entre dos dosis de 1,5 gramos.

Los efectos de la administración fueron entonces probados al nivel bioquímico estudiando los siguientes parámetros:

- 35
1. Niveles de plasma de L-arginina;
 2. Modificación sanguínea de la relación L-arginina/ADMA;
 3. Excreción urinaria de nitratos;
 4. Excreción urinaria de cGMP

40 Además, los efectos al nivel clínico también fueron probados administrando la "tarjeta de evaluación de función eréctil" (Cuestionario IIF-5) a los pacientes y midiendo la vasodilatación mediada por flujo de las arterias cavernosas antes y después de la terapia.

45 Los datos relacionados con los parámetros bioquímicos citados anteriormente fueron adquiridos para pacientes sometidos a la prueba siete días después del comienzo de la administración del medicamento y se muestran a continuación de la Tabla 1, Tabla 2, Tabla 3 y Tabla 4.

Tabla 1

<u>Niveles de Plasma de L-arginina ($\mu\text{mol/l}$)</u>	
<u>Medicamento</u>	<u>Máxima concentración de plasma</u>
L-arginina	89 \pm 10
L-citrulina	172 \pm 25

Tabla 2

<u>Relación L-arginina/ADMA</u>		
<u>Medicamento</u>	<u>Línea de Base</u>	<u>Después de la administración</u>
L-arginina	186 \pm 7	189 \pm 10
L-citrulina	183 \pm 8	290 \pm 15

Tabla 3

<u>Excreción urinaria de nitratos (nmol/mmol creatinina)</u>		
<u>Medicamento</u>	<u>Línea de base</u>	<u>Después de la administración</u>
L-arginina	91 \pm 10	93 \pm 12
L-citrulina	89 \pm 9	133 \pm 16

Tabla 4

<u>Excreción urinaria de cGMP (nmol/mmol creatinina)</u>		
<u>Medicamento</u>	<u>Línea de base</u>	<u>Después de administración</u>
L-arginina	38 \pm 3.1	39 \pm 4.5
L-citrulina	40 \pm 2.8	55 \pm 3.8

- 5
- 10 Los datos mostrados en las tablas 1 a 4 permiten observar que la administración oral de L-citrulina, respecto de la administración de L-arginina, es capaz de producir niveles de plasma estadísticamente mayores de arginina y llevan a una vida media de plasma estadísticamente más larga de L-arginina. Además, debería señalarse que la administración de la L-citrulina también produce una mayor excreción de nitratos y cGMP (medida en términos de nmol/mmol de creatinina), una señal de la producción real de óxido nítrico por los tejidos endoteliales.
- 15 Además desde un punto de vista clínico, se ha observado que la administración de L-citrulina produce una modificación del cuestionario IIF-5 por los pacientes al nivel de los componentes relacionados con conseguir y mantener una erección. También desde un punto de vista clínico, un aumento estadísticamente mayor en la vasodilatación mediada por flujo al nivel de las arterias cavernosas también se observó con la administración de la L-citrulina.
- 20 En la práctica se ha descubierto que la L-citrulina para tratar la disfunción eréctil según la invención consigue plenamente el objetivo pretendido, puesto que la administración de L-citrulina a solas a una dosis igual a 6 g/día modifica positivamente y de una forma estadísticamente significativa los parámetros bioquímicos y clínicos relacionados con la disfunción eréctil, de este modo indicando que la capacidad endógena de los tejidos para sintetizar el óxido nítrico ha sido restablecida.
- 25 Además, se ha observado que la L-citrulina, a una dosis igual a 6 g/día, también gracias a la combinación con otras sustancias tales como extracto de *Viscum album* y NADPH permite actuar de una forma diferenciada pero simultánea sobre los procesos bioquímicos normales que regulan la síntesis endógena del óxido nítrico.

De hecho se ha observado que la L-citrulina a solas, a una dosis igual a 6 g/día, o en combinación con extracto de *Viscum album* y NADPH permite aumentar la biodisponibilidad de L-arginina, inducir la actividad de enzimas NOS y aumentar la penetración de L-arginina en el nivel intracelular endotelial.

REIVINDICACIONES

1. L-citrulina para su uso en el tratamiento de la disfunción eréctil, en donde la L-citrulina fue administrada con una dosis igual a 6 gramos/día.
- 5 2. L- citrulina para su uso según la reivindicación 1, en donde la L-citrulina está en combinación con un extracto acuoso de Viscum album.
3. L-citrulina para su uso según la reivindicación 1 o 2, en donde la L-citrulina está en combinación con NADPHA.
4. Un compuesto farmacéutico que comprende L-citrulina en combinación con un extracto acuoso de Viscum album y opcionalmente NADPH.
- 10 5. El compuesto farmacéutico según la reivindicación 4 para su uso en el tratamiento de la disfunción eréctil.