

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 527 527**

51 Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2002 E 02735773 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.10.2014 EP 1399139**

54 Título: **Composiciones basadas en aminoácidos de cadena ramificada para mejorar la función ventricular miocárdica en pacientes que padecen diabetes**

30 Prioridad:

15.06.2001 IT TO20010580

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

26.01.2015

73 Titular/es:

**DETERMINANTS OF METABOLISM RESEARCH
LABORATORY S.R.L. (100.0%)**

Via Marconi 1

29015 Castel San Giovanni (PC), IT

72 Inventor/es:

CONTI, FRANCO y

DIOGUARDI, FRANCESCO SAVERIO

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 527 527 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composiciones basadas en aminoácidos de cadena ramificada para mejorar la función ventricular miocárdica en pacientes que padecen diabetes

5 La presente invención se refiere al uso de composiciones basadas en aminoácidos para mejorar la función ventricular miocárdica en pacientes que padecen diabetes, en particular diabetes de tipo II.

10 Los estudios experimentales llevados a cabo en pacientes del tipo indicado han mostrado, al nivel del miocardio, una depresión del metabolismo energético, una reducción de la velocidad de síntesis y un aumento de la degradación de proteínas. Una degradación general de la función mecánica del músculo cardiaco deriva de lo anterior, cuyos mecanismos patógenos principales son la disponibilidad reducida de material energético y la presencia de proteínas contráctiles que tienen baja actividad ATPasa.

Los documentos WO0202103 y WO0202092 desvelan el uso de aminoácidos para tratar la insuficiencia cardiaca crónica. Estos documentos se enmarcan en el Artículo 54(3) EPC.

15 El artículo "Protection of branched-chain amino acid against ischemic myocardial injury in rats", de Li-Ai Ling y col., Biomedical and Environmental Sciences, 12(1) 1999, p. 62-65 indica que BCAA tienen un efecto protector contra la reducción de ATP durante la fase isquémica.

El artículo "The protective effect of enriched branched chain amino acid formulation in the ischemic heart: a phosphorous-31 nuclear magnetic resonance study", de H. Schwalb y col., J. of Mol. And Cell. Cardiol. 19(10) 1987, p. 991-998, indica que BCAA tienen efectos bioquímicos y hemodinámicos beneficiosos en el corazón isquémico.

20 El documento EP-A-0 483 614 desvela el uso de aminoácidos para la preparación de una composición para mejorar la función cardiaca que puede usarse como una terapia cardiaca en la que la isquemia preexistente se trata o en la que la isquemia puede resultar de una intervención terapéutica.

25 En la actualidad, no se conocen enfoques terapéuticos dirigidos a la producción de mejoras notables de la función miocárdica ventricular en pacientes que padecen diabetes, para influir favorablemente en la historia natural de dichos pacientes, retardando o previniendo la aparición de insuficiencia cardiaca, que representa la causa principal de morbilidad y mortalidad dentro de dicha población de pacientes.

La presente invención tiene el objetivo de indicar un enfoque terapéutico absolutamente innovador para el problema anteriormente mencionado.

30 Dentro de este marco, un primer objetivo de la invención es el de indicar composiciones capaces de determinar una mejora notable de la función ventricular miocárdica en pacientes que padecen diabetes, particularmente pero no exclusivamente diabetes de tipo II.

Un objetivo adicional de la invención es el de indicar composiciones capaces de determinar, en pacientes del tipo anterior, un aumento notable de la fracción de eyección ventricular, en reposo y en pico del ejercicio isométrico.

Un objetivo adicional de la invención es el de indicar composiciones capaces de eliminar la reducción de la fracción de eyección ventricular que, en pacientes que padecen diabetes, se produce durante el esfuerzo isométrico.

35 Los inventores han llegado al uso de composiciones basadas en aminoácidos, según las reivindicaciones adjuntas que son una parte integral de la presente descripción, que demuestran ser particularmente eficaces para los fines propuestos.

40 Dichas composiciones, que se proporcionan para uso oral o parenteral, se caracterizan por comprender, como principios activos principales, los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina, hasta el 75 % de todos los aminoácidos o principios activos que están presentes, expresando el valor en pesos moleculares.

Las composiciones de acuerdo con la invención también comprenden, como principios activos adicionales, treonina y lisina, en las que en particular están presentes treonina más lisina hasta el 50 % de todos los aminoácidos o principios activos que están presentes, expresando el valor en pesos moleculares.

45 Las composiciones posibilitan, como principios activos adicionales, otros aminoácidos esenciales, en particular metionina y fenilalanina e histidina y triptófano, y aminoácidos no esenciales, en particular tirosina y cistina/cisteína (es decir cistina y cisteína).

50 La suma de las cantidades expresadas en pesos moleculares de treonina y lisina es mayor que la suma de las cantidades individuales de los otros aminoácidos esenciales que se proporcionan, pero en cualquier caso menor que la suma de las cantidades individuales de los aminoácidos de cadena ramificada que se proporcionan. Además, las cantidades expresadas en peso molecular de treonina y lisina pueden ser cada una mayor que las cantidades individuales de los otros aminoácidos esenciales que se proporcionan, pero en cualquier caso menores que las cantidades individuales de los aminoácidos de cadena ramificada que se proporcionan.

El uso de composiciones de acuerdo con la invención también pueden comprender uno o más aminoácidos adicionales, con respecto a los previamente indicados, la suma de los cuales, expresados en peso molecular, es preferentemente menor del 20 % con respecto a los principios activos, y menor del 10 % para cada aminoácido adicional individual.

5 Debe observarse que, en términos generales, una mezcla de aminoácidos particularmente adecuada para su uso nutricional en seres humanos debería satisfacer diferentes requisitos:

- el pH de la solución de la mezcla debería ser sustancialmente neutro, para evitar pérdidas de calcio urinario,
 - la mezcla debería ser segura, con respecto al equilibrio de calcio (es decir, sin pérdidas urinarias) y producción de homocistina/homocisteína (es decir, preferentemente relacionada con la cantidad de todos los aminoácidos,
- 10 una relación estrictamente correcta de aminoácidos que contengan azufre, con una relación de cistina o cisteína/metionina de al menos 2:1 de forma estequiométrica).

Además, el contenido de aminoácidos esenciales en la mezcla debería ser preferentemente en una relación adecuada para satisfacer las necesidades nutricionales humanas reales (y esta puede optimizarse por la adición cooperativa de relaciones adecuadas y pequeñas de algunos aminoácidos no esenciales).

15 Dentro de este marco, un uso preferido de las composiciones de acuerdo con la invención, que comprende aminoácidos esenciales (leucina, isoleucina, valina, treonina, lisina, metionina, fenilalanina, histidina, triptófano) y algunos aminoácidos no esenciales (tirosina y cistina o cisteína), en relaciones molares diferentes pero fijas y cooperativas entre ellos, es el siguiente:

- los aminoácidos de cadena ramificada leucina (40-60 % en peso molecular), isoleucina (20-40 % en peso molecular) y valina (20-40 % en peso molecular), preferentemente en una relación estequiométrica 2:1:1 entre ellos, abarcando del 30 al 60 % de la mezcla completa;
 - treonina más lisina, preferentemente en una relación molar con dichos aminoácidos de cadena ramificada entre el 20 y el 50 %, preferentemente en una relación de treonina y lisina en la que la lisina está del 10 al 50 % más representada que la treonina;
 - dichos aminoácidos de cadena ramificada anteriores más treonina y lisina, cuya suma del peso molecular está en una relación estequiométrica del 50 al 70 % de una mezcla que también comprende histidina y otros aminoácidos, en los que histidina está presente en una fracción molar de hasta el 50 % de los siguientes aminoácidos:
- cisteína/cistina (es decir, cistina y cisteína) y metionina, hasta el 50 % de histidina (la relación entre la cistina o cisteína y la metionina debería ser preferentemente del 50 al 200 % mayor para cistina o cisteína en relación molar),
 - fenilalanina y tirosina, en una relación molar de hasta el 50 % de histidina (en la que la tirosina está preferentemente representada hasta el 50 % del peso molar de fenilalanina),
 - triptófano, hasta el 10 % del peso de todos los otros aminoácidos, basándose en un peso molar.
- 30

35 Debe observarse que cualquier otro aminoácido puede añadirse a la formulación anterior, sin alterar los efectos esperados, siempre que la suma de los aminoácidos adicionales esté en un porcentaje menor del 20 % con respecto a los otros principios activos (menos del 10 % para cada aminoácido individual).

También debe observarse que una característica significativa de dicha formulación anterior es la de tener un pH en solución en agua comprendido entre 6,5 y 8,5, y por lo tanto adecuado para un uso oral o parenteral seguro, en seres humanos o animales, según las necesidades. Esta característica evita las pérdidas urinarias de calcio excesivas inducidas por fuentes proteicas de aminoácidos.

40

Los efectos de una mezcla de aminoácidos de acuerdo con la formulación sugerida anteriormente fueron objeto de un estudio comparativo.

45 Para este fin, se reclutaron 18 pacientes que padecían diabetes de tipo II (mellitus) (M/F 16/2, edad 62 ± 6 años, índice de masa corporal (IMC) $27,4 \pm 3,0$ kg/m²). La duración media de la enfermedad fue de 12 ± 8 años. La hemoglobina glucosilada fue de $8,2 \pm 0,8$ %. Después de la evaluación basal, los pacientes se seleccionaron aleatoriamente en el tratamiento con una composición de aminoácidos de acuerdo con dicha formulación preferida anterior de la invención (12 g/día) o con placebo, durante un periodo de 3 semanas. El tratamiento se cambió posteriormente y se mantuvo durante un periodo adicional de 3 semanas.

50 Los parámetros metabólicos principales analizados fueron: glucemia, insulinemia, péptido C, ácidos grasos libres (FFA), colesterol total y fraccionado, triglicéridos y fibrinógeno.

La función ventricular izquierda se evaluó por medio de ecocardiografía bidimensional, usando un sistema Hewlett-Packard Sonon 5500, con programa dedicado para la ejecución de metodologías de esfuerzo con ecografía y la cuantificación de imágenes ventriculares. Los estudios ecocardiográficos se codificaron y se analizaron en ciego, por dos observadores independientes, sin conocer la identidad del paciente y la condición experimental. El análisis ecocardiográfico se llevó a cabo usando un procedimiento de reproducción en bucle digital (Prevue System, Nova

55

Microsonics Inc.). Los volúmenes ventriculares se calcularon, en las diversas condiciones experimentales, con un procedimiento de longitud de área biplano, del que se derivó la fracción de eyección (FE) como el índice de función de la bomba ventricular: $FE = \frac{VTD-VTS}{VTD}$, en la que VTD y VTS representan el volumen telediastólico y telesistólico del ventrículo izquierdo, respectivamente.

5 La función contráctil parietal se evaluó analizando el engrosamiento sistólico miocárdico, en cada segmento obtenido subdividiendo el ventrículo izquierdo en 16 segmentos (de acuerdo con los patrones de la *Sociedad Americana de Ecocardiografía*) y usando un sistema de puntuación semicuantitativo (1=normal, 2=hipocinesia, 3=acinesia, 4=discinesia).

10 La función ventricular general y regional se estudió en condiciones de reposo y durante el esfuerzo isométrico mediante un ensayo de agarre manual.

Después de haber determinado la contracción voluntaria máxima por medio de un dinamómetro, se llevó a cabo esfuerzo isométrico al 40 % durante 3 minutos. Durante el esfuerzo, se controló la función ventricular por ecocardiografía bidimensional y se controló la presión arterial mediante un procedimiento oscilométrico continuo (Nippon Colin Co. Ltd).

15 Los resultados del estudio se expresan como media \pm DT. Las comparaciones múltiples se llevaron a cabo por medio del análisis de varianza de dos vías para medidas repetidas, seguido del ensayo de Fisher. Un valor de dos colas $\leq 0,05$ se ha considerado significativo.

Ninguno de los parámetros metabólicos se modificó significativamente, ni por el tratamiento con la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención, ni por la administración de placebo.

20 Como resulta evidente a partir de la Tabla 1 a continuación, el tratamiento con la mezcla de acuerdo con la invención no provocó variaciones significativas, con respecto a la glucemia en ayunas, insulinemia y sensibilidad a la insulina consideradas mediante la técnica de ensayo de tolerancia a la insulina.

25 También con respecto al metabolismo lipídico, no se observaron variaciones en relación con el colesterol total, HDL, triglicéridos, ácidos grasos libres y Lp(a). Además, no se produjeron modificaciones sustanciales con respecto tanto a valores de presión como al índice de masa corporal.

Tabla 1 - Características clínicas de pacientes

	<i>Placebo</i>	<i>Invención</i>	<i>P</i>
Demografía			
Edad (años)	62 \pm 6		
Características clínicas			
Duración de la enfermedad (años)	10 \pm 7		
Índice de masa corporal (DT) (kg/m ²)	27 \pm 3	27 \pm 3	n.s.
Tratamiento antihipertensión (%)	77 %		
Presión sistólica (DT) (mm Hg)	151 \pm 12	154 \pm 17	n.s.
Presión diastólica (DT) (mmHg)	84 \pm 5	84 \pm 6	n.s.
HbA1c (DT) (%)	8,7 \pm 1,7	8,6 \pm 1,6	n.s.
Insulinemia (DT) (μ m/ml)	14 \pm 8	20 \pm 15	n.s.
Colesterolemia (DT) (mg/dl)	225 \pm 27	214 \pm 24	n.s.
Colesterol HDL (DT) (mg/dl)	47 \pm 13	46 \pm 15	n.s.
Trigliceridemia (DT) (mg/dl)	165 \pm 91	115 \pm 66	n.s.
Ácidos grasos libres (DT) (mmol/l)	699 \pm 395	656 \pm 370	n.s.
Lp(a) (DT) (mg/dl)	12 \pm 10	13 \pm 10	n.s.

(continuación)

	<i>Placebo</i>	<i>Invencción</i>	<i>P</i>
Proteinuria (mg/día)	40 ± 35	45 ± 29	n.s.
Terapia anti diabetes (D/ADO/ADO+I/I)	2/9/3/4		

Analizando la función ventricular general de los pacientes que son el objeto del estudio, fue posible extraer las siguientes conclusiones:

- 5 1) el tratamiento con la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención no modifica, de una manera significativa, las dimensiones ventriculares (consideradas como volumen telediastólico), ni en reposo (77 ± 24 frente a 78 ± 24 ml/m², p=ns), ni en el pico del esfuerzo isométrico (86 ± 26 frente a 88 ± 25 ml/m², p=ns). Además, se mantiene el mismo incremento inducido por el esfuerzo isométrico;
- 10 2) durante el tratamiento con la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención, la fracción de eyección aumenta de una manera significativa, tanto en reposo (58 ± 8 frente a 52 ± 12 %, p=0,009) y en el pico del esfuerzo isométrico (58 ± 10 frente a 43 ± 13 , p=0,0001); es entonces particularmente interesante que
- 3) la reducción de la fracción de eyección durante el esfuerzo isométrico es nula, con respecto a la condición basal (p=0,188), que se mantiene en su lugar durante el placebo (p<0,0001).

15 Tras analizar la función contráctil miocárdica regional de los pacientes, se pueden realizar las siguientes observaciones:

- la administración de la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención determina una reducción de la extensión de la disfunción contráctil regional en reposo (considerada como *índice de puntuación de movimiento en pared*, IPMP) ($1,32 \pm 0,42$ frente a $1,26 \pm 0,41$, p=0,005);
 - el esfuerzo isométrico provoca un extensión de la disfunción contráctil regional independientemente del tipo de
- 20 tratamiento, pero la extensión de la disfunción contráctil en el pico de esfuerzo es menor durante el tratamiento con la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención ($1,49 \pm 0,45$ frente a $1,29 \pm 0,41$, p<0,05).

Resulta evidente a partir de lo anterior que la administración oral de la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención determina variaciones notables de la función miocárdica y ventricular en pacientes con diabetes, en particular diabetes de tipo II.

25 Dicha administración ha influido de hecho positivamente en la función miocárdica ventricular izquierda, tanto en reposo como durante esfuerzo isométrico. Es particularmente interesante el hecho de que dicha administración evita la depresión de la función provocada por el esfuerzo isométrico que caracteriza a los pacientes con diabetes.

Los datos anteriores también destacan una acción positiva en el inotropismo miocárdico y el reclutamiento contráctil durante condiciones de carga aumentada (tal como durante el agarre manual caracterizado por un aumento agudo

30 de la carga posterior). Este efecto puede ser el resultado de la acción combinada de una mejora del metabolismo energético y una inversión del desplazamiento de la síntesis de proteínas contráctiles a la producción de elementos de actividad ATPasa rápida.

Los resultados que derivan del estudio de la función contráctil regional también destacan una reducción de la extensión de la disfunción contráctil crónica reversible, que es una señal de una influencia favorable en el miocardio

35 en hibernación.

Finalmente, la administración de la mezcla de aminoácidos de acuerdo con la invención reduce la extensión adicional de la disfunción contráctil inducida por isquemia aguda durante el esfuerzo isométrico.

A partir de la descripción proporcionada resultarán evidentes las características de la presente invención, así como sus ventajas. En particular, la administración oral de la mezcla descrita de aminoácidos influye positivamente en la

40 función ventricular miocárdica de pacientes que padecen diabetes, en particular diabetes de tipo II. La influencia positiva es evidente en reposo y durante la sobrecarga aguda impuesta por un esfuerzo isométrico durante agarre manual, y también en la función contráctil parietal, por medio de una reducción de la extensión del fenómeno de hibernación miocárdica y de la extensión de la disfunción contráctil inducida por isquemia aguda durante el esfuerzo isométrico.

45 Resulta por lo tanto evidente que el uso propuesto de aminoácidos permite influir favorablemente en la historia natural de los pacientes diabéticos, retardando o previniendo la aparición de insuficiencia cardiaca, que representa la causa principal de morbilidad y mortalidad dentro de dicha población de pacientes.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Uso de los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina, en combinación con treonina, lisina, metionina, fenilalanina, histidina, triptófano, tirosina, cisteína y cistina como principios activos para la fabricación de composiciones para retardar o prevenir la insuficiencia cardiaca en pacientes que padecen diabetes, particularmente pero no exclusivamente diabetes de tipo II, en el que la suma de las cantidades en pesos moleculares de treonina y lisina es mayor que la suma de las cantidades de metionina, fenilalanina, histidina, triptófano que se proporcionan, pero menor que la suma de las cantidades de dichos aminoácidos de cadena ramificada.
- 10 2. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que dichos aminoácidos de cadena ramificada están presentes hasta el 75 % de los aminoácidos o principios activos que se proporcionan, expresando el valor en pesos moleculares.
3. Uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la treonina más lisina están presentes hasta el 50 % de los aminoácidos o principios activos que están presentes, expresando el valor en pesos moleculares.
- 15 4. Uso de acuerdo con al menos una de las reivindicaciones previas, en el que las cantidades en peso molecular de treonina y de lisina son cada una mayores que las cantidades individuales de metionina, fenilalanina, histidina, triptófano que se proporcionan, pero menores que las cantidades individuales de dichos aminoácidos de cadena ramificada.
- 20 5. Procedimiento de fabricación de una composición para retardar o prevenir la insuficiencia cardiaca en pacientes diabéticos, **caracterizado por** el uso de los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina, valina en combinación con treonina, lisina, metionina, fenilalanina, histidina, triptófano, tirosina, cisteína y cistina como principios activos, en el que la suma de las cantidades en pesos moleculares de treonina y lisina es mayor que la suma de las cantidades de metionina, fenilalanina, histidina, triptófano que se proporcionan, pero menor que la suma de las cantidades de dichos aminoácidos de cadena ramificada.
- 25 6. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina están presentes de la siguiente manera:
- del 40 al 60 % de leucina en peso molecular,
 - del 20 al 40 % de isoleucina en peso molecular,
 - del 20 al 40 % de valina en peso molecular,
- y en el que la suma de las cantidades de los aminoácidos de cadena ramificada leucina, isoleucina y valina está comprendida entre el 30 y el 60 % de la suma en peso molecular de todos los principios activos.
- 30 7. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 6, **caracterizado por** proporcionar treonina más lisina en una relación molar (Pm/Pm) con dichos aminoácidos de cadena ramificada entre el 20 y el 50 %, en particular con una relación de treonina y lisina en la que la lisina está del 10 al 50 % más representada que la treonina.
8. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 5, en el que la histidina está presente en una relación molar (Pm/Pm) hasta el 50 % de los siguientes aminoácidos:
- 35
- cistina y cisteína y metionina,
 - fenilalanina y tirosina,
 - triptófano.
9. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cisteína y cistina están representadas sobre la base de 50 a 200 % en relación molar (Pm/Pm) de la cantidad de metionina.
- 40 10. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la tirosina está representada hasta el 50 % del peso molar de fenilalanina.