

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 965 278**

51 Int. Cl.:

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 13/04 (2006.01)

A23L 33/105 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.04.2015 PCT/ES2015/070301**

87 Fecha y número de publicación internacional: **03.12.2015 WO15181412**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.04.2015 E 15724334 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.08.2023 EP 3150208**

54 Título: **Teobromina o sus derivados para el tratamiento o prevención de la litiasis renal úrica**

30 Prioridad:

29.05.2014 ES 201430819

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

11.04.2024

73 Titular/es:

**UNIVERSITAT DE LES ILLES BALEARS (100.0%)
Edificio Son Lledo. Ctra. Valldemossa, Km 7.5
07120 Palma de Mallorca (Islas Baleares), ES**

72 Inventor/es:

**GRASES FREIXEDAS, FÉLIX;
COSTA BAUZÁ, ANTONIA;
PRIETO ALMIRALL, RAFAEL MARIA y
RODRÍGUEZ RODRÍGUEZ, ADRIAN**

74 Agente/Representante:

CONTRERAS PÉREZ, Yahel

ES 2 965 278 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

El uso de teobromina o sus derivados para el tratamiento o prevención de la litiasis renal

5 **Campo de la técnica**

La presente invención se refiere a la teobromina o sus derivados para su uso como inhibidor de la cristalización del ácido úrico para evitar la formación de cristales de ácido úrico en orina y como consecuencia la litiasis renal úrica.

10 **Estado de la técnica**

En la actualidad se sabe que el problema fundamental de la litiasis úrica radica en la existencia más o menos persistente de valores de pH urinario inferiores a 5.5. La sobresaturación urinaria de ácido úrico ligada a la excreción de esta sustancia es importante, pero en prácticamente ningún caso se ha demostrado que es un factor decisivo en el desarrollo de la litiasis. Se intuye que la presencia de inhibidores de la cristalización del ácido úrico puede ser relevante, ya que individuos con los mismos valores de pH urinario y concentración de ácido úrico, unos forman cálculos renales úricos y otros no. Ahora bien, aunque se ha realizado algún estudio "in vitro" de potenciales inhibidores de la cristalización del ácido úrico, donde se ha demostrado que las saponinas, glicosaminoglicanos y glicoproteínas exhiben una notable capacidad para inhibir la cristalización del ácido úrico, no se conoce ningún estudio clínico sobre esta materia.

En la actualidad el tratamiento profiláctico de la litiasis renal úrica se basa en la implementación de medidas dietéticas para disminuir los niveles de ácido úrico en la orina y a su vez incrementar los niveles de pH urinario. Por este motivo se recomienda disminuir el consumo excesivo de proteína de origen animal (carnes rojas, mariscos, pescado azul, vísceras, etc.) y bebidas alcohólicas e incrementar el consumo de frutas (fundamentalmente cítricos) y verduras, así como de bebidas carbónicas. Los únicos fármacos que en la actualidad se utilizan para el tratamiento de la litiasis renal úrica son el citrato como agente basificante urinario, y en aquellos casos en los que se detecta hiperuricemia, se disminuye la síntesis de ácido plasmático a través de la inhibición de la enzima xantina oxidasa, responsable de la síntesis de ácido úrico, mediante administración oral de alopurinol o febuxostat (Grases F et al., Urol. Int. 1999; 62(4):201-4; Ngo TC, et al., Rev. Urol. 2007; 9(1):17-27).

Bouropoulos C. et al., "The effect of theophylline on in vitro calcium oxalate formation", 2010, Journal of Endourology vol. 24, pp. A21-A21 describe la capacidad de la teofilina para inhibir la cristalización de cálculos de oxalato de calcio monohidrato.

Shekarriz et al., "Uric acid nephrolithiasis: current concepts and controversies" Journal of Urology, vol. 168, pp. 1307-1314, describe el tratamiento de urolitiasis renal mediante alcalización urinaria para la disolución de las piedras y la prevención de recurrencia.

WO95/15164A1 describe el uso de teofilina, teobromina y derivados y sales de las mismas para el tratamiento profiláctico crónico de asma leve.

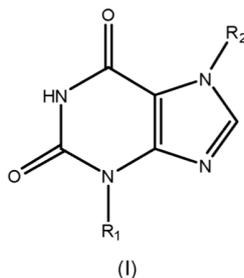
Por tanto el arsenal terapéutico disponible para el tratamiento de la litiasis úrica es todavía muy limitado, siendo de interés la aportación de nuevas estrategias terapéuticas que aporten nuevas soluciones a esta patología.

45 **Descripción de la invención**

La presente invención tiene por objeto presentar un nuevo producto para el tratamiento de la litiasis renal de ácido úrico basada en el descubrimiento de un nuevo y potente inhibidor de la cristalización del ácido úrico. Dicho producto será un derivado de la xantina, modificando las posiciones 3 y 7 mediante una cadena lineal o ramificada de grupos alquilo de uno a seis átomos de carbono y que pueden ser iguales o distintos entre sí. Por ejemplo, con los grupos R₁ y R₂ como grupos metilo, una dimetilxantina llamada teobromina.

La teobromina (C₇H₈N₄O₂, de nombre químico 3,7-dimetilxantina o 3,7-dihidro-3,7-dimetil-1H-purina-2,6-diona) es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, familia que incluye también a la teofilina y la cafeína. A diferencia de la cafeína, la teobromina tiene dos grupos metilo en lugar de tres.

Por tanto, un primer aspecto de la presente invención se refiere al un compuesto de fórmula general (I).



donde R_1 y R_2 son iguales o diferentes y representan un grupo alquilo (C_1 - C_6) o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la litiasis renal preferiblemente la litiasis renal úrica.

- 5 El término "alquilo" se refiere, en la presente invención a cadenas hidrocarbonadas saturadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, etc. más preferiblemente de 1 a 3 átomos de carbono y más preferiblemente es un metilo.
- 10 En una realización preferida, R_1 es un grupo alquilo (C_1 - C_3) más preferiblemente R_1 es un metilo.
- En otra realización preferida R_2 es un grupo alquilo (C_1 - C_3), más preferiblemente R_2 es un metilo.
- En una realización más preferida R_1 y R_2 son un grupo metilo.
- 15 Teniendo en cuenta que se ha demostrado en la presente invención que los compuestos de fórmula general (I) son inhibidores de la cristalización del ácido úrico, en otra realización particular, el compuesto de fórmula (I) según se ha descrito anteriormente se utiliza para la elaboración de una composición destinada a reducir riesgos y mejorar el estado de salud de pacientes con litiasis renal úrica.
- 20 La teobromina se encuentra en concentraciones bastante altas en el chocolate. Una pieza de 50g de chocolate negro o amargo, que contiene un mínimo de 34% hasta un máximo del 98% de cacao, podría contener en promedio 378 mg de teobromina. Esta cantidad de chocolate es obviamente segura y se puede consumir sin efectos secundarios de ningún tipo. La dosis de más de 1000 mg se han utilizado con seguridad en los ensayos clínicos sin efectos secundarios ni tóxicos, pero
- 25 puede causar leves molestias estomacales. Debe ingerirse una gran cantidad de cacao para que la teobromina pueda tener efectos nocivos a los seres humanos. Aunque la teobromina no causa efectos nocivos a los seres humanos, es altamente tóxica para algunos animales domésticos, incluyendo perros y gatos. Una dosis baja de teobromina en los animales, puede causar arritmias cardíacas y convulsiones, e incluso la muerte.
- 30 Por tanto, en una realización preferida la presente invención se refiere al uso de una preparación de un compuesto de fórmula (I), más preferiblemente de teobromina, para su uso en una composición (composición farmacéutica, nutracéutico, alimento funcional o complemento dietético) para el tratamiento o prevención de la litiasis renal úrica. Las dosis utilizadas van desde 100 mg/día hasta 380 mg/día.
- 35 El término "litiasis renal", "urolitiasis" o "nefrolitiasis" se refiere al trastorno causado por la presencia de cálculos o piedras en el interior de los riñones o de las vías urinarias (uréteres, vejiga). Los cálculos renales se componen de sustancias normales de la orina (sales cálcicas, ácido úrico, cistina etc.) que por diferentes razones se han concentrado y precipitado formando fragmentos de mayor o menor tamaño.
- 40 El término "cristales de ácido úrico" o "cálculos de ácido úrico" incluye todo aquel proceso o condiciones que implica/induce la formación de precipitados sólidos en la orina en los que está implicada esta sustancia.
- En una realización preferida, la composición es una composición farmacéutica o un nutracéutico o alimento funcional.
- 45 En la presente invención se entiende como "nutracéutico" o "alimento funcional", un alimento que posee un efecto beneficioso sobre la salud. Del mismo modo, el término nutracéutico puede aplicarse a extractos o compuestos químicos obtenidos de alimentos comunes. Ejemplos de alimentos a los que se les atribuyen propiedades nutracéuticas son el aceite de oliva, el vino tinto, el brócoli, la soja, etc. los nutracéuticos son normalmente empleados en mezclas nutricionales y en la industria farmacéutica. Del mismo modo que algunos alimentos pueden ser clasificados como nutracéuticos, también se clasifican así a algunos suplementos nutricionales, como por ejemplo ácidos grasos como los omega-3 derivados del aceite de pescado y
- 50 de algunos vegetales o los antioxidantes y vitaminas.

El compuesto de fórmula (I), y en particular la teobromina, puede administrarse en forma sólida (incluyendo gránulos, polvo o supositorios) o en forma líquida (como son las disoluciones, suspensiones o emulsiones). A su vez, pueden administrarse como tales o bien, después de ser sujetas a operaciones tales como esterilización, adición de conservantes, adición de estabilizantes o adición de emulsificantes.

La administración del compuesto de fórmula (I), en particular de la teobromina, podrá combinarse con uno o más compuestos que faciliten su absorción a través de la ruta de administración seleccionada. Así, pueden administrarse con lactosa, sacrosa, talco, estearato de magnesio, celulosa, sales cálcicas, gelatina, ácidos grasos, así como otras sustancias parecidas.

Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los adyuvantes y vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

Para su aplicación en terapia, el compuesto de fórmula (I), en particular la teobromina, se encontrará, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, y todavía más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% de compuesto de fórmula (I), o de sus sales o solvatos.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos.

Breve descripción de las figuras

FIG. 1. Curvas cinéticas para la cristalización del ácido úrico (400 mg/L) en orina sintética a pH=4,67, a diferentes concentraciones de teobromina. Se representa la absorbancia (a 550 nm) frente al tiempo (en minutos).

FIG. 2. Representación gráfica de los periodos de inducción (en minutos), para una disolución de 400 mg/L de ácido úrico en orina sintética, a diferentes valores de pH y concentración de teobromina.

FIG. 3. Cristales de ácido úrico, observados mediante microscopía electrónica de barrido, obtenidos en orina sintética a pH=4,67, en ausencia de teobromina (A) y en presencia de 20 mg/L (B) y 40 mg/L (C) de teobromina.

FIG. 4. Esquema del sistema en flujo utilizado, que consta de una disolución de orina sintética, una disolución de ácido úrico ambas impulsadas por dos bombas peristálticas a diferente caudal, una conexión en forma de T y una cámara que contiene el cálculo de ácido úrico.

FIG. 5. Porcentaje de incremento de masa (con barra de error estándar) *in Vitro* de fragmentos de cálculos renales de ácido úrico de un mismo paciente obtenidos después de litotricia extracorpórea por ondas de choque, al ser sometidos a un flujo constante de orina sintética durante 48 horas en presencia de diferentes concentraciones de teobromina.

FIG. 6. Fragmentos de cálculos de ácido úrico observados mediante microscopía electrónica de barrido, que han crecido en contacto con orina sintética, sin teobromina (A) y con 20 mg/L de teobromina (B).

Ejemplos

A partir de una disolución de 400 mg/L de ácido úrico en orina sintética (de composición media similar a la orina), y a diferentes pH y concentraciones de teobromina, se registraron las correspondientes curvas cinéticas de cristalización del ácido úrico con un turbimientto. La FIG. 1 muestra las curvas cinéticas para el ácido úrico (sin teobromina), y para esa misma concentración de ácido úrico añadiendo 10, 20, y 40 mg/L de teobromina a pH=4,67. Como puede verse, el tiempo de inducción (tiempo en el que empiezan a aparecer cristales) aumenta notablemente a medida que incrementamos la concentración de teobromina, lo cual indica que esta sustancia actúa como un inhibidor de la nucleación del ácido úrico.

Así, se calcularon los tiempos de inducción para 400 mg/L de ácido úrico en orina sintética, a diferentes pH y diferentes concentraciones de teobromina (tabla 29). Tal y como puede verse de forma gráfica en la FIG. 2, los tiempos de inducción aumentan al aumentar la concentración de teobromina. Además, ese efecto inhibitorio es mucho más acusado cuando se aumenta el pH urinario.

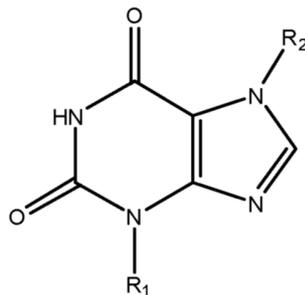
Tabla 1. Tiempos de inducción (y desviación estándar (DE)) para una disolución de 400 mg/L de ácido úrico en orina sintética a diferentes pH y concentraciones de teobromina.

	Conc. Teobromina (mg/L)	Tiempo de inducción (min)	DE
pH=4,39	0	2,3	0,07
	10	4,3	0,4
	20	6,8	0
	40	15	2,8
pH=4,50	0	3	0
	10	3,9	0,5
	20	6,9	0,14
	40	14,8	1
pH=4,67	0	6	0,6
	10	13	3
	20	23	3
	40	38	4

- El precipitado generado durante el experimento turbidimétrico se filtró al vacío, se dejaron secar los cristales, y se miraron a través de un microscopio electrónico de barrido para comprobar si había diferencia en la morfología de los cristales en función de la concentración de teobromina. La FIG. 3 muestra dichos cristales generados a partir de una disolución de 400 mg/L en orina sintética a pH=4,67, sin teobromina, y con 20 y 40 mg/L de teobromina. Como puede verse, a medida que se incrementa la concentración de teobromina, la morfología de los cristales de ácido úrico cambia, volviéndose mucho más estrechos y alargados. Esto se traduce en que el inhibidor actúa sobre las caras laterales del cristal, impidiéndole crecer por esa zona. Así, además de ser un inhibidor de la nucleación del ácido úrico, actúa también como un inhibidor del crecimiento cristalino.
- El último experimento que se realizó fue un estudio del efecto de la teobromina como inhibidor del crecimiento cristalino del ácido úrico. Para ello, se utilizaron fragmentos de cálculos de ácido úrico de un mismo paciente (obtenidos mediante litotricia extracorpórea por ondas de choque), a los cuales se les hizo pasar orina sintética con 400 mg/L de ácido úrico y diferentes concentraciones de teobromina, mediante un sistema en flujo como el que aparece representado en la FIG. 4. Dicho sistema consta de dos bombas peristálticas. Una de ellas impulsa la orina sintética sin ácido úrico a pH=3,00 (4-A). La otra de ellas impulsa una disolución de ácido úrico de 2 g/L a pH=10,70 (4-B). Ambas disoluciones estaban termoestabilizadas a 37°C (5). Cuando se quiso estudiar el efecto de la teobromina, ésta se disolvió en la orina sintética. Dichas disoluciones (orina sintética y ácido úrico) se mezclan en la conexión en forma de T (3), y se origina orina sintética a 400 mg/L de ácido úrico, a un pH de entorno 5,40. Las bombas peristálticas tienen diferentes caudales, teniendo en cuenta que la orina sintética final debe tener 400mg/L de ácido úrico, y que el volumen total a lo largo de un día debe ser 750 mL, que es el volumen medio de orina que pasa por un riñón.
- Una vez que se mezclan las disoluciones de ácido úrico y de orina sintética ésta pasa por una cámara dentro de la estufa a 37°C (1) que contiene un cálculo de ácido úrico previamente pesado (2). El sistema en flujo se mantiene durante 48 horas. Al acabar, se secan los cálculos en una estufa, y se vuelven a pesar. Así, se calcula el % de incremento de masa.
- La FIG. 5 muestra el porcentaje de incremento de masa en función de la concentración de teobromina. Fueron utilizados 5 cálculos para cada concentración de teobromina. Como puede verse a medida que aumenta la concentración de teobromina, el % en masa de los fragmentos de cálculos disminuye, siendo el incremento prácticamente nulo a 20 mg/L de teobromina.
- Para ver si había diferencia en la morfología del cálculo en función de la concentración de teobromina tras ser sometidos los cálculos al proceso en flujo, se llevaron dos fragmentos al microscopio electrónico de barrido (FIG. 6). Puede verse que, cuando no hay inhibidor, los fragmentos que han crecido sobre la superficie del cálculo son más grandes que cuando había teobromina.
- Todos los experimentos anteriores ponen de manifiesto una elevada capacidad de la teobromina para inhibir tanto la nucleación como el crecimiento cristalino del ácido úrico, con una potencial aplicación en el tratamiento y prevención de la litiasis renal úrica.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula general (I)



(I)

- 5 donde R_1 y R_2 son iguales o diferentes y representan un grupo alquilo (C_1-C_6) o cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables para su uso en el tratamiento y/o la prevención de la litiasis renal, donde la litiasis renal es litiasis renal úrica.
- 10 2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, donde R_1 es un grupo alquilo (C_1-C_3).
3. El compuesto para su uso según la reivindicación 2, donde R_1 es un metilo.
4. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde R_2 es un grupo alquilo (C_1-C_3).
- 15 5. El compuesto para su uso según la reivindicación 4, donde R_2 es un metilo.
6. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde R_1 y R_2 son un grupo metilo.
- 20 7. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde el compuesto está comprendido en una composición y donde la composición es una composición farmacéutica, alimento funcional, un producto nutracéutico o un suplemento alimenticio.
8. El compuesto para su uso según la reivindicación 7, donde la composición, además de un compuesto de fórmula (I) contiene lactosa, sacarosa, talco, estearato de magnesio, celulosa, sales cálcicas, gelatina o ácidos grasos.

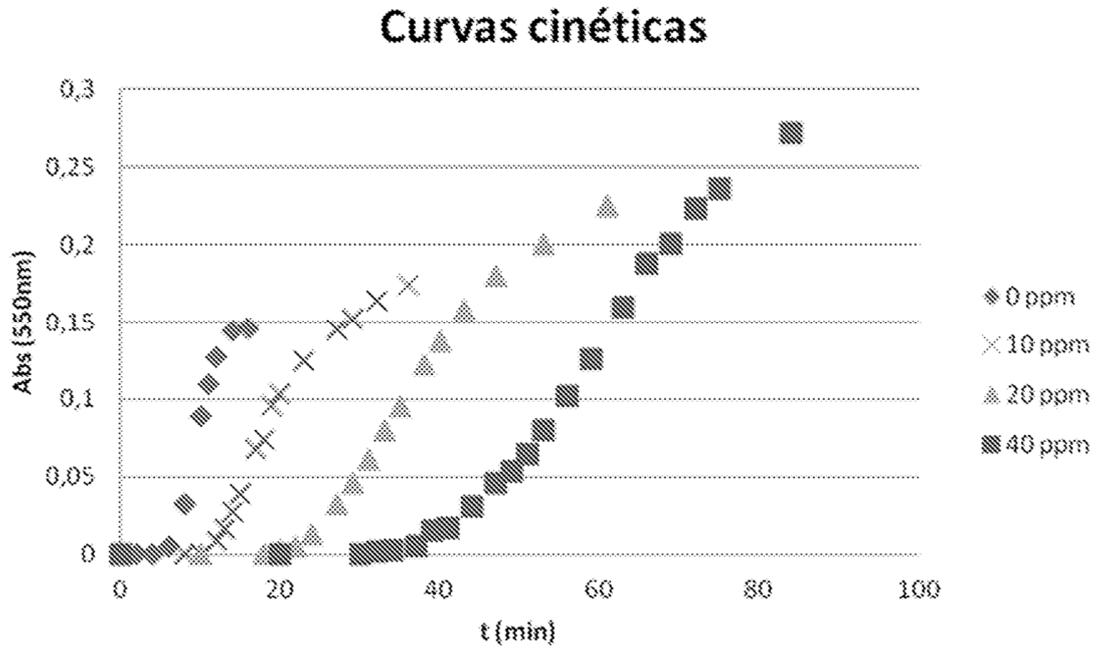


FIG. 1

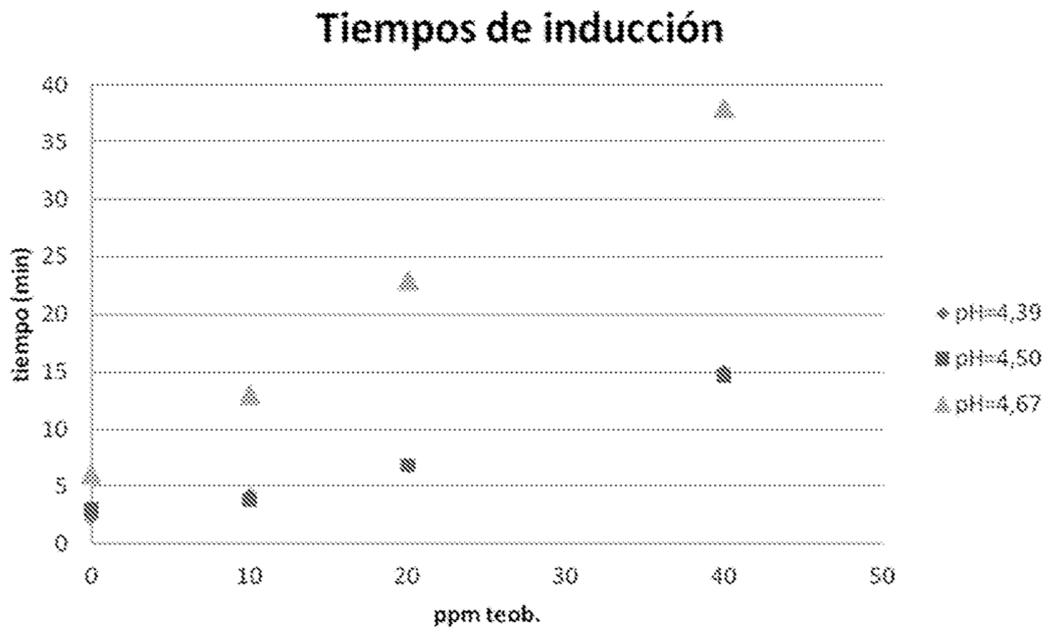


FIG.2

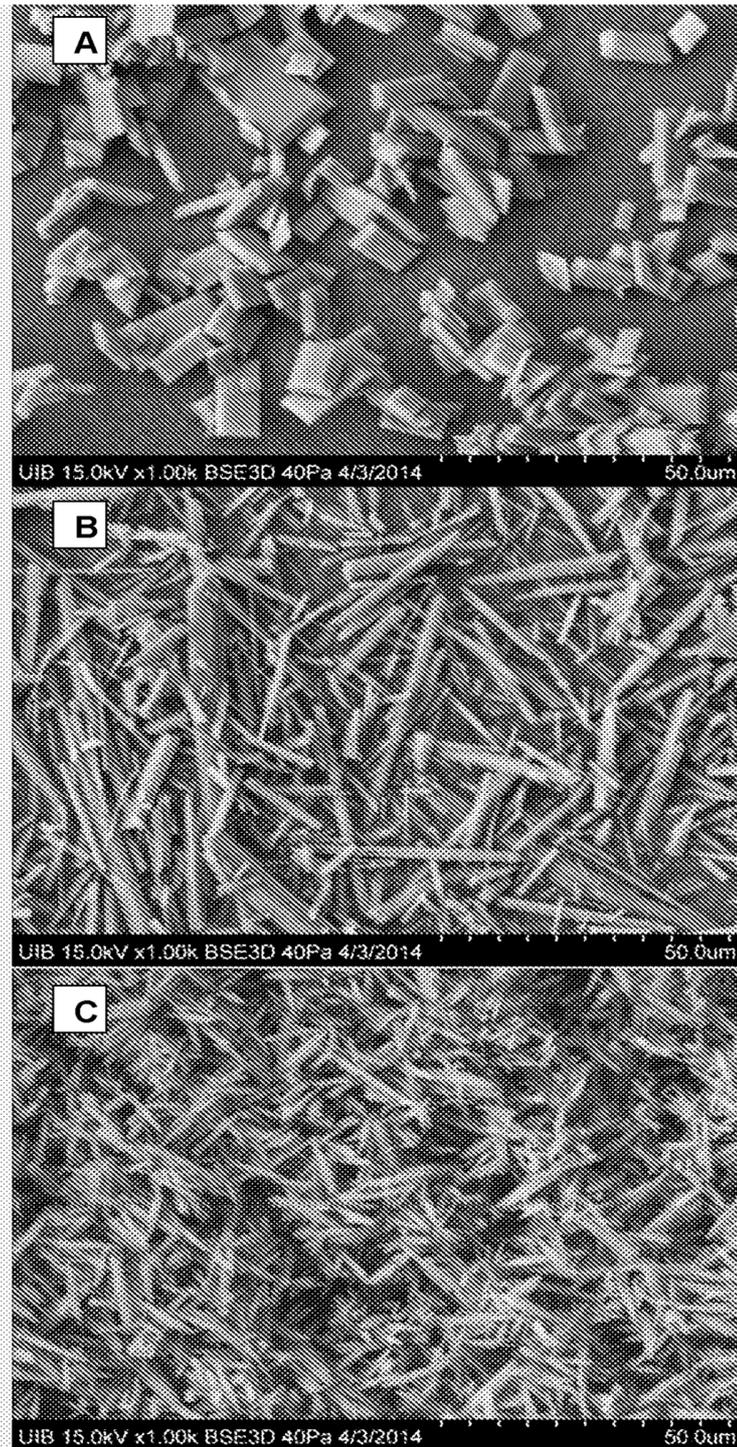


FIG.3

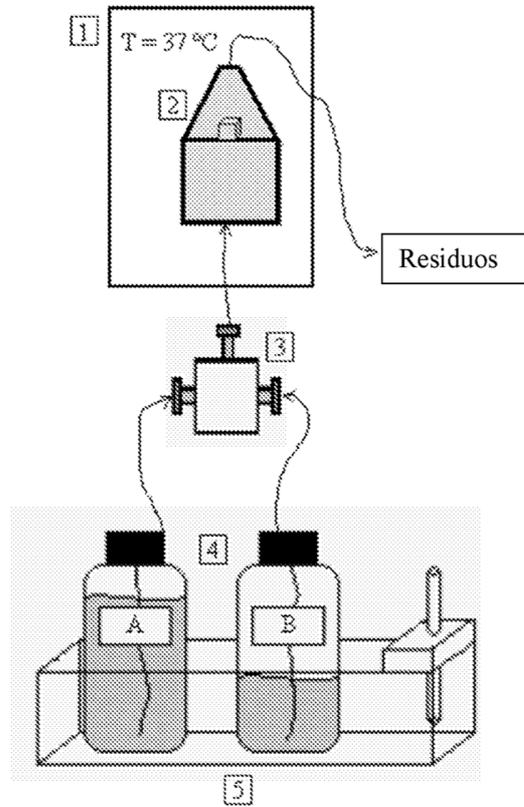


FIG.4

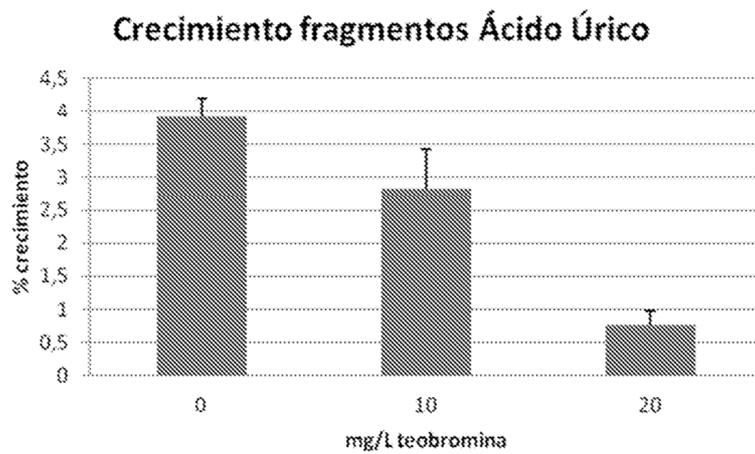


FIG.5

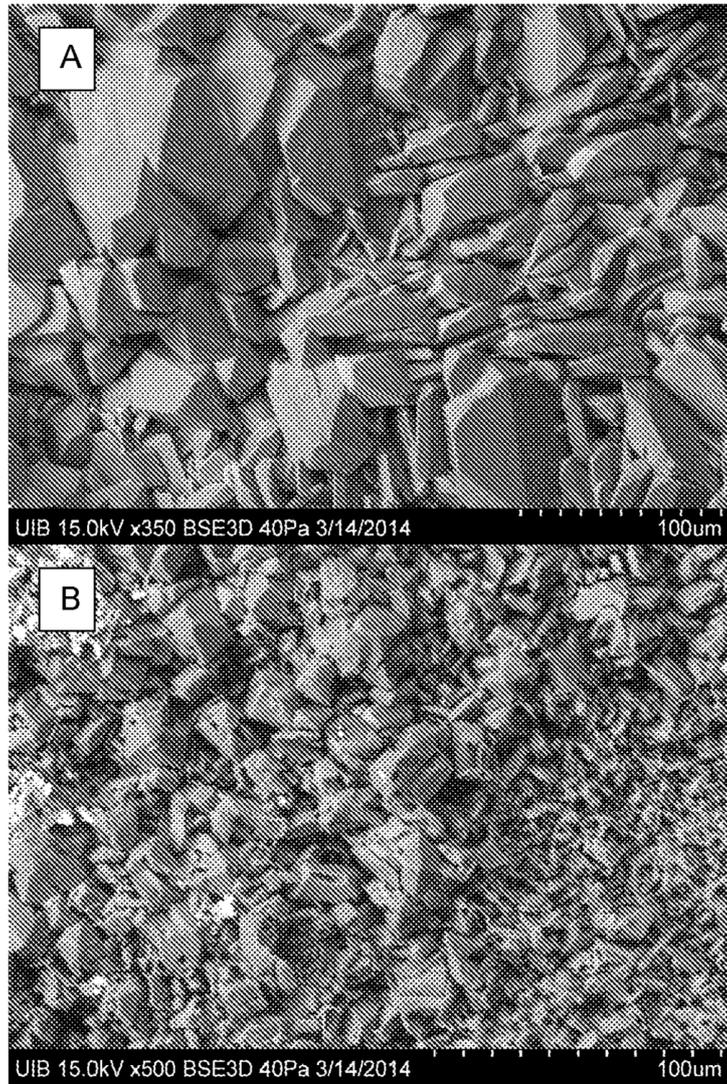


FIG.6

REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN

Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.

Documentos de patentes citados en la descripción

- WO 9515164 A

Literatura diferente de patentes citada en la descripción

- Grases F et al. Urol. Int, 1999, vol. 62(4), 201-4
- NGO TC. Rev. Urol., 2007, vol. 9(1), 17-27
- Bouropoulos C. et al. The effect of theophylline on in vitro calcium oxalate formation. Journal of Endourology, 2010, vol. 24, A21-A21
- Shekarriz et al. Uric acid nephrolithiasis: current concepts and contrversies. Journal of Urology, vol. 168, 1307-1314