

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 906**

21 Número de solicitud: 201100709

51 Int. Cl.:

**A61K 31/205** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**16.06.2011**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**06.02.2013**

Fecha de la concesión:

**20.11.2013**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**02.12.2013**

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA (100.0%)  
OTRI-PABELLÓN DE BRASIL, PASEO DE LAS  
DELICIAS S/N  
41012 SEVILLA (Sevilla) ES**

72 Inventor/es:

**VÁZQUEZ CUETO, Carmen M<sup>a</sup>;  
BLANCA LOBATO, Antonio Jesús;  
ZAMBRANO SEVILLA, Sonia;  
RUIZ ARMENTA, Maria Victoria;  
MIGUEL CARRASCO, José Luís y  
MATE BARRERO, Alfonso**

54 Título: **USO DE LA L-CARNITINA Y SUS COMPOSICIONES PARA EL TRATAMIENTO Y LA PREVENCIÓN DE LA FIBROSIS RENAL.**

57 Resumen:

La presente invención se encuentra dentro del campo de la Medicina y la Nutrición, y se refiere al uso de la L-carnitina (LC), para la elaboración de un medicamento, composición farmacéutica o suplemento nutricional dirigido a combatir la fibrosis, basado en los parámetros de marcadores profibróticos, ejerciendo a su vez un carácter nefroprotector y cardioprotector que podría prevenir el desarrollo de enfermedad renal y cardiaca, en especial la asociada a la hipertensión arterial (HTA).

ES 2 394 906 B1

**Uso de la L-carnitina y sus composiciones para el tratamiento y la prevención de la fibrosis renal**

5           La presente invención se encuentra dentro del campo de la Medicina y la Nutrición, y se refiere al uso de la L-carnitina (LC), para la elaboración de un medicamento, composición farmacéutica o suplemento nutricional dirigido a combatir la fibrosis, basado en los parámetros de marcadores profibróticos, ejerciendo a su vez un carácter nefroprotectory cardioprotector que podría prevenir el desarrollo de  
10 enfermedad renal y cardiaca, en especial la asociada a la hipertensión arterial (HTA).

          Esta aplicabilidad de la LC podría dirigirse a pacientes con enfermedades que cursan con el desarrollo de fibrosis, concretamente a pacientes hipertensos que pueden llegar a desarrollar fibrosis a nivel cardiaco y renal. Por otro lado, esta aplicabilidad antifibrótica de la LC sería de potencial interés para aquellas empresas que  
15 comercializan la LC. El producto se puede comercializar bien como medicamento (solo o en composiciones farmacéuticas), o bien como suplemento nutricional, y está dirigido especialmente a aquellas personas con riesgos de padecer fibrosis orgánica asociada a enfermedad.

20 **ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR**

          Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), la HTA afecta aproximadamente a 1.000 millones de personas en el mundo y se ha convertido en la enfermedad crónica más frecuente. Esta enfermedad afecta a varios órganos diana,  
25 siendo uno de ellos el riñón. Los estudios sugieren que la hipertensión arterial puede ser tanto causa como consecuencia de enfermedades renales (*E. Ritz. Clinical Nephrology. 2010; 74-Suppl.*), y existen evidencias de que aproximadamente un 35% de los pacientes hipertensos desarrollan una lesión a nivel renal (*Whitworth JA. Ann Acad Med Singapore 2005; 34:8-15*), apareciendo alteraciones funcionales y estructurales renales  
30 que conducen a lesiones glomerulares, como glomeruloesclerosis, túbulo-intersticiales con atrofas tubulares y vasculares, con deterioro progresivo de la función renal, que

puede evolucionar a una insuficiencia renal (**Campese and col. Curr Opin Nephrol Hypertens 2000; 9:143-144**).

Además de lo indicado anteriormente, la hipertensión arterial produce lesión directa sobre las células endoteliales del glomérulo, estimulando la producción de citoquinas que aumentan la tensión de la pared capilar. Esta tensión actúa sobre las células mesangiales que también liberan citoquinas (*transforming growth factor*, TGF- $\beta$  y *platelet-derived growth factor*, PDGF) que aumentan la matriz mesangial, promoviendo el desarrollo de fibrosis (**Alvo M. Medwave. 2009; Vol 11**). La fibrosis conduce a una disrupción de la arquitectura normal del riñón causando fallo renal crónico. Sin embargo, no existen muchos medicamentos con una actividad antifibrótica eficiente que aminore el efecto producido (**Qin Hu and col. Nephrol Dial Transplant. 2009; 24:3033-3041**).

Numerosos estudios han demostrado la importancia del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) en el daño fibrótico renal que subyace en la HTA, mediado por un incremento en el estrés oxidativo debido a la activación de la enzima NADPH oxidasa, como respuesta a la unión de angiotensina II (ANGII) a su receptor AT1 (**Garrido and col. Cell Endocrinol 2009; 302: 148-158**). Este aumento en las especies reactivas de oxígeno, entre otros muchos efectos, trae consigo la activación de la citoquina profibrótica TGF- $\beta$  en el riñón (**M. Rupérez and col. American Journal of Pathology. 2003. Vol. 163, nº5; F. Yang and col. Hypertension. 2009. 54:877-884; Emmanuel S. and col. Cardiology in review. 2009. Vol. 17, nº5**). El TGF- $\beta$  actúa promoviendo la expresión del colágeno y activando el factor de transcripción *connective tissue growth factor* (CTGF), que desempeña un papel fundamental en el desarrollo de la fibrosis (**F. Yang and col. Hypertension. 2009. 54:877-884**). El CTGF es también activado por variedad de estímulos implicados a su vez en el daño renal, como la aldosterona, o altas concentraciones de glucosa (**De las Heras N. and col. J. Hypertens. 2007. 25(3):629-38; M. Rupérez and col. American Journal of Pathology. 2003. Vol 163, nº5**).

Todos los estudios mencionados con anterioridad hacen que, hoy día, no sólo sea importante aumentar el conocimiento y la investigación de nuevas estrategias que ayuden a conseguir un mejor control de la presión arterial, sino que también sea importante prevenir y/o paliar las alteraciones estructurales y funcionales de los órganos diana, como el riñón, mediante la utilización de fármacos con nuevos enfoques

terapéuticos. De aquí que los fármacos que interaccionan con el SRAA sean de gran importancia en el tratamiento de la HTA y concretamente el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas que bloqueen las acciones de la ANGII.

La L-carnitina (L-3-hidroxi-4-N,N,N-trimetilaminobutirato;LC) es un derivado aminoacídico presente en la mayoría de las especies animales y en muchos microorganismos y plantas. Se encuentra ampliamente distribuido por todo el organismo, aunque se presenta en mayores cantidades en el corazón y en el músculo esquelético (*Rebouche C. J. FASEB J 1992; 6: 3379-3386*). La función principal de este derivado aminoacídico consiste en actuar como cofactor en el transporte de ácidos grasos al interior de la mitocondria, donde se produce la  $\beta$ -oxidación de los mismos, para la obtención de energía metabólica (*Bremer J. Physiol Rev 1983; 63: 1420-1480*), desempeñando un papel crucial en el metabolismo de los ácidos grasos. El 75% de la cantidad de LC requerida por el organismo proviene de la dieta. El resto se sintetiza endógenamente en el hígado, riñón y cerebro, a partir de los aminoácidos lisina y metionina (*Tanphaichitr and col. J Biol Chem 1973; 248: 2176-2181*).

La LC no es considerada normalmente como un nutriente esencial, debido a que el organismo en condiciones normales es capaz de sintetizar las cantidades necesarias. Sin embargo, en la mayoría de las patologías producidas por una deficiencia de LC está justificada la suplementación con la misma. Esta deficiencia aparece en algunas patologías cardiovasculares (*Ferrari and col. Ann NY Acad Sci 2004; 033: 79-91; Kendler B.S. J Cardiovasc Nurs 2006; 21: 9-16*), así como en pacientes hemodializados, donde se observa una gran pérdida de LC (*Hedayati SS. Semin Dial 2006; 8: 323-328*).

Por otro lado, el riñón es un órgano esencial en la homeostasis de LC, ya que más del 95% de la LC filtrada es reabsorbida por sus túbulos (*Lahjouji and col. Mol Genet and Metabol 2001; 73, 287-297*), por lo cual este hecho junto a su papel como órgano productor de LC, nos indica que un daño renal producido por la hipertensión arterial (HTA) podría conducir a una falta de LC en el organismo. Trabajos varios han demostrado el papel beneficioso de la LC en ratas con insuficiencia renal crónica, así como y en situaciones de isquemia-reperusión renal, atribuyéndole estos efectos a sus propiedades antioxidantes (*Sener and col. J Cardiovasc Pharmacol 2004; 43,698-705; Junsheng and col. 2010; 161, 58-66*).

**BÚSQUEDA DE NUEVAS SOLUCIONES**

Estudios previos de nuestro grupo de investigación han demostrado el efecto antihipertensivo, antioxidante, antiinflamatorio y cardioprotector de la LC en la HTA, (Mate and col. *Drug Discovery Today* 2010; 11: 484-492). Por lo cual y según lo indicado en el apartado anterior, nuestra hipótesis es que la LC podría actuar paliando o evitando la fibrosis renal asociada a la HTA, impidiendo la activación del CTGF mediada por la acción de la ANGII sobre el TGF- $\beta$ .

**DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS**

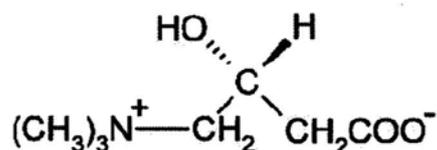
**Figura 1.-** Estudio histológico del riñón. Tinción de rojo Sirio. Aumento 100X. (I: fibrosis intersticial. PG: fibrosis periglomerular. G: fibrosis glomerular. PV: fibrosis perivascular).

**Figura 2.-** Estudio histológico del riñón. Tinción de rojo Sirio. Aumento 400X. I: fibrosis intersticial. PG: fibrosis periglomerular. G: fibrosis glomerular

**DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN**

Los autores de la presente invención han demostrado que el uso de la L-carnitina, así como sus composiciones farmacéuticas, es útil para el tratamiento de la fibrosis renal, actuando como agente antifibrótico.

Así pues, un primer aspecto de la invención se refiere al uso de L-carnitina, de fórmula (I):



(I)

o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en la elaboración de un medicamento, para la prevención o el tratamiento de la fibrosis renal, o también alternativamente, a la L-carnitina, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, para su uso en la prevención o el tratamiento de la fibrosis renal.

Tal como aquí se utiliza, el término “derivado” incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es decir, derivados del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como derivados farmacéuticamente no aceptables, ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de  
5 derivados farmacéuticamente aceptables.

Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término “profármaco” tal como aquí se utiliza incluye a cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo, ésteres, incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de  
10 fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc., carbamatos, amidas, etc., que, cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I) en dicho individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I)  
15 en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

20 La L-carnitina, o sus sales, profármacos, derivados o análogos, pueden administrarse en una forma substancialmente pura a un mamífero, y preferiblemente un humano, o puede administrarse como parte de una composición más compleja. Cuando se administra formando parte de una composición, la cantidad de L-carnitina, o sus sales, profármacos, derivados o análogos, es tal que alcanza el efecto deseado,  
25 siendo por tanto una cantidad efectiva. Ejemplos de mezclas que pueden contener estos compuestos son, pero sin limitarse, extractos desecados de plantas, polvo de cacao, comida deshidratada, etc. Una persona que necesite L-carnitina, o sus sales, profármacos, derivados o análogos, puede consumirlos, por tanto, como un compuesto farmacéutico, o como parte de una composición que contiene alguno de estos  
30 compuestos, o sus combinaciones, por ejemplo como un suplemento dietético, o como una matriz alimentaria en el que alguno de estos compuestos o sus mezclas se añaden en una cantidad efectiva. Ejemplos de matrices alimentarias son, pero sin limitarse:

leche, yogurt, queso, leche fermentada, leche de soja, cereales precocinados, galletas, pan, bollos, mantequilla, margarina, salchichas, aceites de freír, aceites vegetales, aceite de oliva, aceite de palma, aceite de soja, aceite de girasol, condimentos, zumos de frutas, siropes, helados, productos congelado, gomas de mascar, y alimentos  
5 intermedios.

Por tanto, otro aspecto de la invención se refiere al uso de una composición, de ahora en adelante composición de la invención, que comprende L-carnitina, o sus sales, profármacos, derivados o análogos, para la prevención o el tratamiento de la fibrosis renal. Alternativamente, también se refiere a una composición que comprende L-  
10 carnitina, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, para su uso en la prevención o el tratamiento la fibrosis renal.

En una realización preferida se refiere a la prevención dela fibrosisbien renal o cardiaca. En otra realización preferida se refiere al uso de la composición en la elaboración de un medicamento para la prevención de fibrosis renal y cardiaca. En otra  
15 realización preferida, la composición de la invención es una composición alimentaria. Más preferiblemente, la composición alimentaria incluye un suplemento nutricional. Aún más preferiblemente, además comprende vehículos adecuados, como diluyentes, adyuvantes, excipientes o vehículos en los que se administra la L-carnitina, o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados o análogos, o combinaciones de los mismos.

En otra realización preferida, la composición de la invención es una composición  
20 farmacéutica. En otra realización preferida, la composición farmacéutica comprende, además, un vehículo farmacéuticamente aceptable. En otra realización preferida, además comprende otro principio activo.

El término “medicamento”, tal y como se usa en esta memoria, hace referencia a  
25 cualquier sustancia usada para prevención, diagnóstico, alivio, tratamiento o curación de enfermedades en el hombre y los animales. En el contexto de la presente invención, la enfermedad es la fibrosis renal.

Como se emplea aquí, el término “principio activo”, “sustancia activa”, “sustancia farmacéuticamente activa”, “ingrediente activo” ó “ingrediente  
30 farmacéuticamente activo” significa cualquier componente que potencialmente proporcione una actividad farmacológica u otro efecto diferente en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento, o prevención de una enfermedad, o que afecta a la estructura o

función del cuerpo del hombre u otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la elaboración del fármaco y están presentes en el mismo de una forma modificada prevista que proporciona la actividad específica o el efecto.

5 Las composiciones de la presente invención pueden formularse para su administración a un animal, y más preferiblemente a un mamífero, incluyendo al hombre, en una variedad de formas conocidas en el estado de la técnica. Así, pueden estar, sin limitarse, en disolución acuosa estéril o en fluidos biológicos, tal como suero. Tales composiciones y/o sus formulaciones pueden administrarse a un animal,  
10 incluyendo un mamífero y, por tanto, al hombre, en una variedad de formas, incluyendo, pero sin limitarse a, intraperitoneal, intravenoso, intramuscular, subcutáneo, intracecal, intraventricular, oral, enteral, parenteral, intranasal o dérmico. Preferiblemente, la vía de administración es oral.

#### 15 **MODO DE REALIZACIÓN DE LA INVENCION**

A continuación se detallan los ejemplos de realización de la invención, los cuales no limitan la invención, sino que su finalidad es ilustrarla, poniendo de manifiesto la capacidad de la L-carnitina para actuar con efectoantifibrótico paliando la fibrosis renal asociada a la HTA.

20 La invención se llevó a cabo diseñando un estudio de tipo experimental prospectivo, en el que utilizaremos ratas de la cepa Wistar, asignadas aleatoriamente a los siguientes grupos:

- 1.- Grupo control (que representaremos como WISTAR).
- 2.- Tratadas con L-carnitina (LC) a dosis de 400 mg/Kg de peso corporal y  
25 día disuelto en el agua de bebida durante 12 semanas (grupo WLC).
- 3.- Tratadas con L-NAME a dosis de 25mg/Kg de peso corporal y día disuelto en el agua de bebida durante 10 semanas (grupo WLN).
- 4.- Tratadas con L-carnitina y L-NAME simultáneamente, a las mismas dosis descritas en los puntos 3 y 4 (grupo WLNL). El tratamiento con LC comenzó dos  
30 semanas antes que el tratamiento con LN; por lo tanto, las ratas fueron tratadas durante 12 semanas con LC y durante 10 semanas con LN.

Durante todo el periodo experimental se ha realizado un seguimiento semanal de las cifras de presión arterial. Esta medida se ha llevado a cabo mediante el método indirecto de oclusión en la cola. Para ello se utiliza un medidor de presión acoplado a un sistema de recogida de datos con soporte informático.

5 Al finalizar las 12 semanas de tratamiento, se procede a la obtención del peso del animal y a su sacrificio con una dosis letal de pentobarbital. Se extirpan los riñones, se limpian y se les elimina la cápsula. A continuación, se corta el riñón en dos mediante la realización de un corte transversal. La mitad del riñón fue destinada a estudios de microscopía, mediante la fijación en formalina 4%, durante 24 horas. Una vez finalizado este tiempo, el tejido fue incluido en parafina y cortado en secciones de 5  $\mu\text{m}$  de grosor. 10 Las preparaciones fueron desparafinadas y teñidas con rojo Sirio, colorante que tiñe las fibras de colágeno de un color rojo intenso. La otra mitad del riñón se destinó a estudios moleculares. En esta porción de riñón seccionamos la corteza renal y la congelamos por inmersión en nitrógeno líquido, manteniéndola a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su uso. 15 Parte de esta corteza renal la usamos para determinar, mediante la técnica de PCR a tiempo real, la expresión génica relativa de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), del receptor tipo I de angiotensina II (AT I), de la citoquina profibrótica TGF- $\beta$  y del factor de transcripción CTGF. El resto de la corteza renal se homogeniza para posteriormente determinar la actividad de la enzima NADPH oxidasa mediante técnicas de quimioluminiscencia. 20

En la **tabla I** se muestran los valores (mm de Hg) para las presiones arteriales diastólicas y sistólicas al finalizar el tratamiento en los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p < 0.0001$  para los dos 25 parámetros analizados. Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la presión sistólica final:

- Wistar- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLNLC :  $p < 0.001$
- WLC-WLN :  $P < 0.001$
- 30 • Wistar - WLNLC:  $p < 0.01$
- WLC-WLNLC :  $P < 0.001$

Para la presión diastólica final:

- WISTAR- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLNLC :  $p < 0.01$
- WLC - WLN:  $p < 0.001$
- WISTAR - WLNLC:  $p < 0.001$
- WLC-WLNLC :  $P < 0.001$

5

En la **tabla II** se muestra la expresión génica relativa de la ACE, en corteza renal de los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p < 0.0001$ . Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la expresión

10 relativa de ACE:

- WISTAR- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLC :  $p < 0.001$
- WLN- WLNLC:  $p < 0.001$

En la **tabla III** se muestra la expresión génica relativa de AT1, en corteza renal de los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

15

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p < 0.0001$ . Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la expresión relativa de AT1:

- WISTAR- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLC :  $p < 0.001$
- WLN- WLNLC:  $p < 0.001$

20

En la **tabla IV** se muestra los valores de la actividad de la enzima NADPH oxidasa (LRU, unidades relativas de luz) en corteza renal de los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

25

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p < 0.0001$ . Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la NADPH oxidasa:

- WISTAR- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLC :  $p < 0.001$
- WLN- WLNLC:  $p < 0.001$

30

En la **tabla V** se muestra los valores para la expresión génica relativa de TGF- $\beta$ , en corteza renal de los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p = 0.0001$ . Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la expresión relativa de TGF- $\beta$ :

- WISTAR- WLN:  $p < 0.01$
- WLN - WLC :  $p < 0.001$
- WLN- WLNLC:  $p < 0.001$

10

En la **tabla VI** se muestra los valores para la expresión génica relativa de la CTGF, en corteza renal de los cuatro grupos experimentales de animales (media  $\pm$  error estándar).

Una vez realizado el test de ANOVA se obtuvo una  $p = 0.0001$ . Aplicando el análisis por test de Tukey se obtuvieron las siguientes significaciones para la expresión relativa de CTGF:

- WISTAR- WLN:  $p < 0.001$
- WLN - WLC :  $p < 0.001$
- WLN- WLNLC:  $p < 0.001$

20

La **Figura I** muestra cuatro fotografías de secciones de riñón teñidas con rojo Sirio a un aumento de 100X. Cada fotografía pertenece a grupos distintos, siguiendo el siguiente orden: la fotografía I.a pertenece a una rata Wistar (control), la fotografía I.b pertenece al grupo WLC, la fotografía I.c pertenece al grupo L-NAME y la fotografía I.d pertenece al grupo WLNLC. En las fotografías, observamos un aumento de las fibras de colágeno en las ratas hipertensas tanto a nivel intersticial, como periglomerular, glomerular y perivascular, que se manifiesta con un marcaje rojo intenso en dichas zonas (Fig I.c). No observamos tal intensidad en la fotografía perteneciente a las ratas controles (Fig. I.a). Se observa una disminución en la intensidad de color en las ratas hipertensas tratadas con L-carnitina (Fig. I.d), no mostrándose diferencias entre las ratas controles y las tratadas con L-carnitina (Fig. I.b).

30

La **Figura II** muestra cuatro fotografías de secciones de riñón teñidas con rojo Sirio a un aumento de 400X. En este caso nos hemos centrado en una estructura concreta, el glomérulo renal. Cada fotografía pertenece a grupos distintos, siguiendo el siguiente orden: la fotografía II.a corresponde a una rata Wistar (control), la fotografía II.b pertenece al grupo WLC, la fotografía II.c al grupo L-NAME y la fotografía II.d al grupo WLNLC. Estas fotografías muestran como el glomérulo renal se ve especialmente afectado por la generación de fibrosis asociada a la hipertensión arterial, como se observa en las ratas tratadas con L-NAME (Fig. II.c). Las ratas tratadas con LC además de con LN muestran una evidente reducción en el marcaje al teñir con rojo Sirio (Fig. II.d), a pareciendo una imagen muy similar a la observada en la rata control (Fig. II.a) y control tratada con L-carnitina (Fig. II.b).

Estos resultados muestran que:

1. La presión sistólica y diastólica aumentan significativamente tras el tratamiento con L-NAME. La administración simultánea con LC aminora estos efectos. No existen diferencias significativas en estos parámetros entre las ratas controles y las tratadas con LC.
2. El tratamiento con L-NAME aumenta considerablemente la expresión génica de la ECA, así como de ATI, alcanzándose valores normales tras el suministro simultáneo de LC.
3. La actividad NADPH oxidasa se eleva significativamente tras el tratamiento con L-NAME, mientras que el suministro simultáneo de LC revierte esta actividad, normalizándola.
4. La expresión génica de la citoquina profibrótica TGF- $\beta$ , así como la del factor de transcripción CTGF, aumentan de forma significativa en las ratas tratadas con L-NAME con respecto a los valores encontrados en las ratas normotensas, observándose niveles normales tras el tratamiento con LC.
5. Los estudios histológicos muestran como las ratas tratadas con L-NAME tienen una mayor densidad de colágeno (tanto a nivel glomerular e intersticial como a nivel perivascular), que las ratas Wistar. En las ratas tratadas con LC además de con L-NAME, no observamos este aumento en los componentes de la matriz celular.

**Tabla I.- Valores finales de presión arterial sistólica (PS) y diastólica (PD)**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
PS	124 ± 4.8	194 ± 4	123 ± 3	150 ± 3.2
PD	104 ± 1.8	163 ± 2.5	101 ± 2.9	121 ± 0.7

**Tabla II- Expresión génica relativa de ACE en corteza renal**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
ACE	1 ± 0.04	2.5 ± 0.21	1.1 ± 0.07	1.1 ± 0.15

**Tabla III- Expresión génica relativa de AT1 en corteza renal**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
AT1	1 ± 0.1	2.1 ± 0.16	1.2 ± 0.15	0.9 ± 0.04

5 **Tabla IV.- Actividad de la enzima NADPH oxidasa en corteza renal (LRU, unidades relativas de luz)**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
NADPH oxidasa	42000 ± 2160	61833 ± 2212	44500 ± 843	44500 ± 1648.2

**Tabla V.- Expresión génica relativa de TGF-β en corteza renal**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
TGF-β	1 ± 0.02	3.7 ± 0.04	0.76 ± 0.02	0.66 ± 0.05

**Tabla VI.- Expresión génica relativa de CTGF en corteza renal**

	WISTAR	WLN	WLC	WLNL
CTGF	1 ± 0.018	3.2 ± 0.029	0.82 ± 0.029	1.11 ± 0.028

10

En conclusión, el tratamiento con L-NAME produce un aumento en las medidas de las presiones arteriales sistólicas y diastólicas, aumento que se atenúa con la administración simultánea de LC. Por otro lado, el tratamiento simultáneo de L-NAME y

LC ha atenuado la aparición de fibrosis en la corteza renal mediante su acción sobre el SRAA, concretamente evitando la producción de especies reactivas del oxígeno por la activación de NADPH oxidasa que se produce gracias a la unión de angiotensina II a su receptor ATI. Por lo tanto, y como muestran los estudios histológicos, la LC ha

5 conseguido, mediante este proceso, menguar la acción de la citoquina profibrótica TGF- $\beta$  y del factor de transcripción CTGF, que actúan, en última instancia, sobre los componentes de la matriz celular. Todo ello, confirma los efectos antifibróticos de la LC en el riñón de ratas hipertensas.

10

15

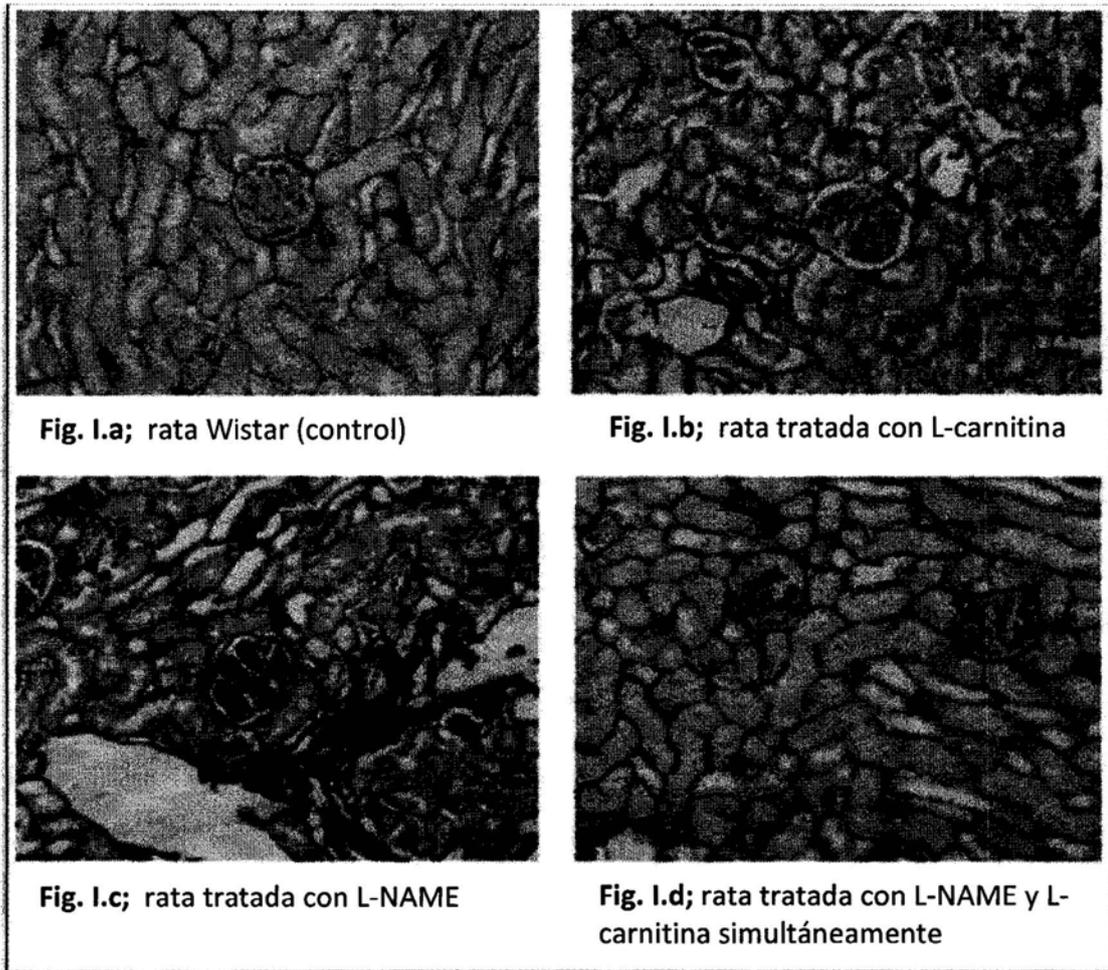
20

25

30

**REIVINDICACIONES**

- 1- Uso de la L-carnitina o cualquiera de sus sales, profármacos, derivados o análogos, o cualquiera de sus combinaciones, en la elaboración de un medicamento, para la prevención y/o el tratamiento de la fibrosis renal.
- 5
- 2- Uso de una composición que comprende L-carnitina, o sus sales, profármacos, derivados o análogos, para la prevención /o el tratamiento de la fibrosis renal.
- 3- El uso de una composición según la reivindicación anterior, en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis renal.
- 10
- 4- El uso de una composición según la reivindicación 2, donde la composición de la invención es una composición alimentaria.
- 15
- 5- El uso de una composición según la reivindicación 4, donde la composición alimentaria incluye un suplemento nutricional.
- 6- El uso de una composición según cualquiera de las reivindicaciones 2-3, donde la composición es una composición farmacéutica.
- 20
- 7- El uso según de una composición cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en enfermedades que cursen con fibrosis orgánica.



**Figura 1**

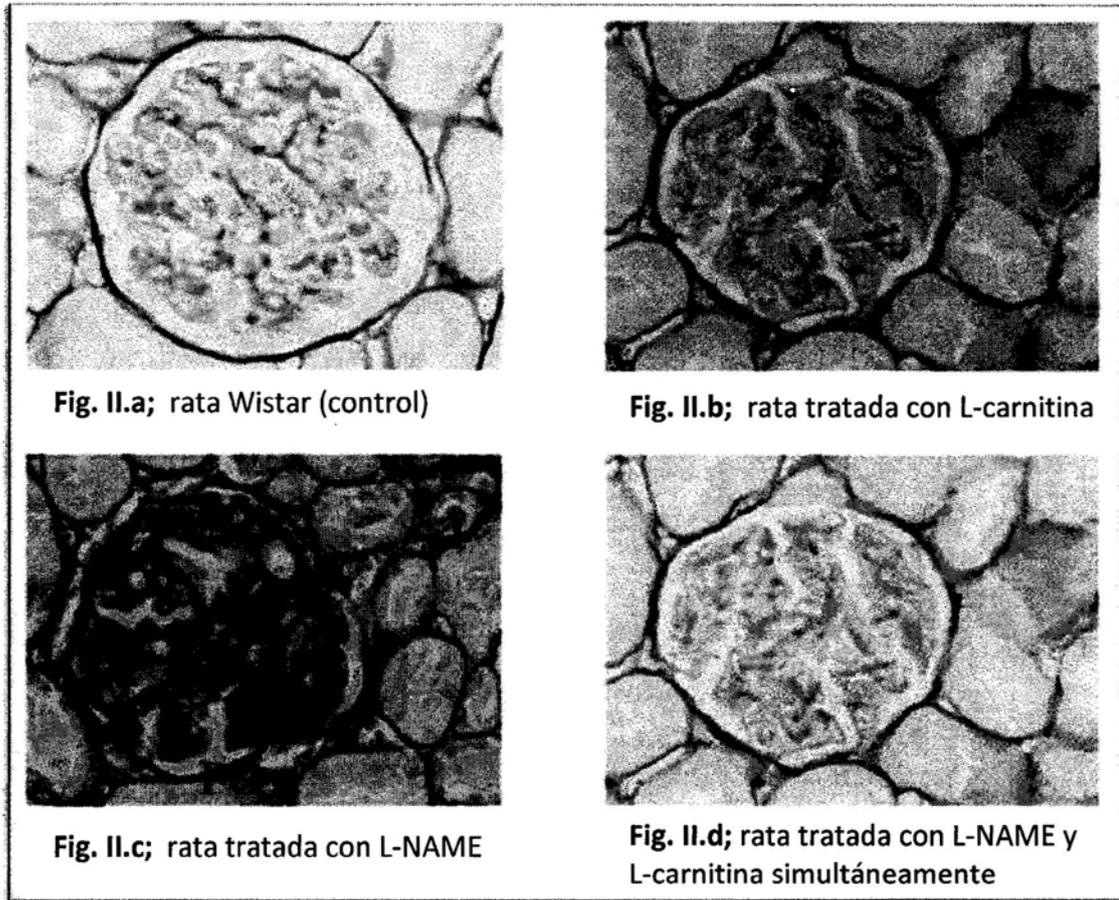


Figura 2



OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201100709

②② Fecha de presentación de la solicitud: 16.06.2011

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K31/205** (2006.01)  
**A61P13/12** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MARTINEZ G. et al.: "Cisplatin-induced kidney injury in the rat: L-carnitine modulates the relationship between MMP-9 and TIMP-3", EXPERIMENTAL AND TOXICOLOGIC PATHOLOGY (2009) vol. 61 (3), pp.: 183-188, ISSN 0940-2993, todo el documento.	1-7
A	MATE A et al.: "The therapeutic prospects of using L-carnitine to manage hypertension-related organ damage", DRUG DISCOVERY TODAY (2010) vol. 15 (11-12), pp.: 484-492, ISSN 1359-6446, todo el documento.	1-7
A	SENER, G et al.: "L-Carnitine Ameliorates Oxidative Damage due to Chronic Renal Failure in Rats" J. Cardiovasc. Pharmacol. (2004) vol. 43 (5), pp.: 698-705, todo el documento.	1-7

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe  
30.11.2012

Examinador  
A. Maquedano Herrero

Página  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NPL, XPESP, BIOSIS, MEDLINE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.11.2012

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-7	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-7	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	MARTINEZ G. et al.: "Cisplatin-induced kidney injury in the rat: l-carnitine modulates the relationship between MMP-9 and TIMP-3", EXPERIMENTAL AND TOXICOLOGIC PATHOLOGY (2009) vol. 61 (3), pp.: 183-188, ISSN 0940-2993, todo el documento.	
D02	MATE A et al.: "The therapeutic prospects of using l-carnitine to manage hypertension-related organ damage", DRUG DISCOVERY TODAY (2010) vol. 15 (11-12), pp.: 484-492, ISSN 1359-6446, todo el documento.	
D03	SENER, G et al.: "L-Carnitine Ameliorates Oxidative Damage due to Chronic Renal Failure in Rats" J. Cardiovasc. Pharmacol. (2004) vol. 43 (5), pp.: 698-705, todo el documento.	

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La solicitud reivindica el uso de la L-carnitina en la elaboración de un medicamento para la prevención o el tratamiento de la fibrosis renal.

D01-D03 representan el estado de la técnica anterior.

D01 es el elemento del estado de la técnica anterior más cercano. Se refiere a la utilización de la L-carnitina para contrarrestar la fibrosis renal provocada por la ingestión continuada del antitumoral cisplatin.

Tanto la solicitud como D01 tienen como objeto prevenir o evitar la fibrosis renal y para ello utilizan L-carnitina a nivel terapéutico.

Por ello se considera que las reivindicaciones 1-7 de la solicitud no cumplen el requisito de novedad en el sentido del artículo 6.1 de la Ley 11/1986, ni el de actividad inventiva en el sentido del artículo 8.1 de la Ley 11/1986.