

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 589 169**

21 Número de solicitud: 201530616

51 Int. Cl.:

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

06.05.2015

43 Fecha de publicación de la solicitud:

10.11.2016

71 Solicitantes:

**INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA -
FUNDACIÓN JIMÉNEZ DÍAZ (75.0%)
Avda. de los Reyes Católicos, 2
28040 MADRID ES y
FUNDACIÓN CANARIA DE INVESTIGACIÓN
SANITARIA (FUNCANIS) (25.0%)**

72 Inventor/es:

**NAVARRO GONZÁLEZ, Juan Francisco;
ORTIZ ARDÚAN, Alberto;
SÁNCHEZ NIÑO, María Dolores y
BARTOLOMÉ SANZ, Ana Belén**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

54 Título: **USO DE LA PENTOXIFILINA Y DE UNA COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA PARA ELABORAR UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO PREMATURO EN HUMANOS**

57 Resumen:

Uso de la pentoxifilina y de una composición farmacéutica para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos. Uso de la pentoxifilina y de una composición farmacéutica que comprende pentoxifilina para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos. Dicho envejecimiento prematuro está causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.

ES 2 589 169 A1

USO DE LA PENTOXIFILINA Y DE UNA COMPOSICIÓN FARMACÉUTICA PARA ELABORAR UN MEDICAMENTO PARA PREVENIR EL ENVEJECIMIENTO PREMATURO EN HUMANOS

5

DESCRIPCIÓN

CAMPO DE LA INVENCIÓN

10 La presente invención se refiere a un compuesto útil para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos. En concreto, dicho compuesto es la pentoxifilina, un inhibidor no selectivo competitivo de la fosfodiesterasa. La pentoxifilina previene la disminución en la expresión de Klotho, una hormona antienvjecimiento.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

15

Klotho es una hormona antienvjecimiento que se expresa en los túbulos celulares del riñón. El déficit genético de Klotho en ratones causa envejecimiento acelerado y muerte por enfermedades asociadas a la vejez en la adolescencia. El riñón es el principal órgano que expresa Klotho. El defecto genético específico de Klotho en ratones y el defecto adquirido de Klotho en la enfermedad renal humana se asocian a envejecimiento acelerado y mortalidad prematura. La inflamación es responsable del descenso de la expresión renal de Klotho. En concreto, la inflamación causada por TNF o TWEAK, citoquinas de la superfamilia del TNF, baja la expresión renal de Klotho. En la actualidad no hay ninguna terapia licenciada que aumente la expresión de Klotho o evite el descenso de la expresión de Klotho.

25

La pentoxifilina es usada en clínica para mejorar el flujo de sangre en pacientes con problemas de circulación para reducir el dolor, calambres y cansancio en las manos y los pies. La pentoxifilina es un inhibidor no selectivo competitivo de la fosfodiesterasa, que plantea cAMP intracelular, activa PKA, inhibe la producción de TNF y la síntesis de leucotrieno, y reduce la inflamación y la inmunidad innata. Además, la pentoxifilina mejora la deformabilidad de los glóbulos rojos de la sangre (conocido como un efecto hemorreológico), reduce la viscosidad de la sangre y disminuye el potencial para la agregación de plaquetas y formación de trombos. La pentoxifilina es también un antagonista de los receptores de adenosina 2.

35

En el documento Moreno, J.A., et al., The inflammatory cytokines TWEAK and TNF α reduce renal klotho expression through NF κ B. J Am Soc Nephrol, 2011, Vol. 22, N $^{\circ}$ 7, páginas 1315-25 se identifican a las citoquinas inflamatorias TNFalfa y TWEAK como responsables de la disminución de Klotho a través de un mecanismo dependiente de NF-kappaB. Como Klotho es una proteína expresada principalmente en el riñón con propiedades antienvjecimiento, los autores muestran la relación entre la inflamación y las enfermedades caracterizadas por un envejecimiento de los órganos, como enfermedad renal crónica.

Varios documentos del estado de la técnica describen distintos efectos de la pentoxifilina, en concreto, efectos antiinflamatorios, efectos de protección renal y efectos de inhibición de las citoquinas TNFalfa. Pero en el estado de la técnica no se describe que la pentoxifilina tenga un efecto de prevención y aumento de la expresión de Klotho ni se describe el uso de la pentoxifilina para prevenir el envejecimiento prematuro debido al déficit de expresión de Klotho.

La pentoxifilina ya está en uso en la clínica para otros fines y se ha demostrado su seguridad clínica.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención proporciona el uso de la pentoxifilina para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos, en adelante uso de la pentoxifilina de la invención.

El uso de la pentoxifilina de la invención también se define como pentoxifilina para su uso para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos.

El uso de la pentoxifilina de la invención también se define como un método para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos, en el que se administra pentoxifilina a humanos.

Otra realización es el uso de la pentoxifilina de la invención, donde dicho envejecimiento prematuro está causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.

La dosis de pentoxifilina que se puede administrar es, por ejemplo, y sin carácter limitante, de 600 a 1200 mg/día, que puede reducirse en función de la presencia de insuficiencia renal o hepática.

- 5 Otra realización es el uso de una composición farmacéutica que comprende pentoxifilina para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos, en adelante uso de la composición farmacéutica de la invención.

10 Otra realización es el uso de la composición farmacéutica de la invención, donde dicha composición farmacéutica comprende pentoxifilina y excipientes farmacéuticamente aceptables.

15 Otra realización es el uso de la composición farmacéutica de la invención, donde dichos excipientes farmacéuticamente aceptables están seleccionados del grupo compuesto por ácido esteárico, cera de carnauba, hipromelosa, lactosa, estearato magnésico, acetato de celulosa, triacetina, lactosa, hipromelosa, dióxido de titanio, triacetina, eritrosina, carmín índigo, laca de aluminio, crospovidona, anhídrido silícico coloidal, polietilenglicol, talco y poliacrilato.

20 La presente invención previene el envejecimiento en los seres humanos mediante el mantenimiento de la expresión normal de Klotho.

La presente invención previene el envejecimiento en los pacientes que tienen inflamación sistémica de cualquier causa.

25

En la presente invención se ha observado que la albúmina baja la expresión de Klotho en células tubulares renales. Y se ha observado que la pentoxifilina previene la disminución en la expresión de Klotho inducida por la albúmina en las células tubulares renales.

30 La demostración de que la pentoxifilina conserva la expresión de Klotho indica que este inhibidor de la fosfodiesterasa podría usarse clínicamente para conservar la expresión de Klotho en los pacientes.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

35

Figura 1. Prevención de la disminución en la expresión Klotho inducida por la albúmina en las células tubulares renales. Media +/- ESM de tres experimentos independientes. RT-PCR cuantitativa. El eje y representa % incremento de expresión del ARNm de Klotho respecto al control. La concentración de BSA es 10 mg/ml. BSA+Pento 4: concentración de pentoxifilina 4 µg/ml. BSA+Pento 40: concentración de pentoxifilina 40 µg/ml. BSA+Pento 200: concentración de pentoxifilina 200 µg/ml. BSA+Pento 400: concentración de pentoxifilina 400 µg/ml. BSA+Pento 800: concentración de pentoxifilina 800 µg/ml. 3 h significa 3 horas.

Figura 2. Prevención de la disminución en la expresión Klotho inducida por la albúmina en las células tubulares renales. Resultados de expresión de proteína Klotho por Western blot. El control se realizó con α-tubulina.

MODOS DE REALIZACIÓN PREFERENTE

Ejemplo 1. Materiales y métodos

Cultivo celular y reactivos

Para los estudios in vitro se cultivaron células renales de túbulo proximal de ratón (MCT). Estas células se cultivaron en medio RPMI 1640 (Life Technologies, Grand Island, NY) con 10% de suero bovino fetal inactivado por calor, 2 mM de glutamina, 100 U/mL de penicilina, 100 µg/mL de estreptomycin en una atmósfera con 5% de dióxido de carbono a 37°C. Para los experimentos, el suero bovino fetal fue retirado 24 horas antes de los estudios y durante todo el experimento. Para simular in vitro las condiciones de las nefropatías albuminúricas, se cultivaron las células MCT con albúmina sérica bovina (BSA) a diferentes concentraciones.

Estudios de proteínas por Western blot

La membrana fue incubada durante toda la noche a 4°C con el anticuerpo anti-Klotho a una dilución 1:500. Tras esto, se lavó la membrana y se incubó con un anticuerpo secundario unido a peroxidasa a una dilución 1:2000 (Amersham, Aylesbury, Reino Unido). El siguiente paso fue incubar la membrana con anti-tubulina a una dilución 1:5000 (Sigma, St. Louis, MO) y su correspondiente anticuerpo secundario. Se ha utilizado la tubulina como control de carga de la técnica. Tras esto, las membranas se revelaron con el método de

quimioluminiscencia potenciada (ECL) siguiendo las instrucciones del fabricante (Amersham).

Extracción de ARN y reacción inversa de la polimerasa (PCR)

5

El ARN total se extrajo a partir de tejido y de células por el método del reactivo TRI (Sigma) y 1 µg de ARN se transcribió a ADN complementario mediante el kit comercial High Capacity cDNA Archive Kit (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Se usó una sonda para Klotho previamente desarrollada (Applied Biosystems). La PCR cuantitativa se realizó en un
10 termociclador ABI Prims 7500 (Applied Biosystems) de acuerdo con el protocolo del fabricante y utilizando el método de Ct DeltaDELTA. Los niveles de expresión se muestran como relaciones a GAPDH.

Ejemplo 2. Prevención de la disminución en la expresión de Klotho inducida por la albúmina
15 en las células tubulares renales.

Se cultivaron células tubulares renales según lo descrito en el Ejemplo 1. La albúmina (BSA)
10 mg/ml baja la expresión de ARNm de Klotho en células tubulares cultivadas y la pentoxifilina evita este efecto e incluso, de forma dosis-dependiente aumenta la expresión
20 de Klotho sobre el basal, incluso en presencia de albúmina (Figura 1).

A las 24 horas se observa una disminución de proteína Klotho en células tubulares cultivadas en presencia de albúmina (BSA) y 400 µg/ml pentoxifilina evitan este efecto
(Figura 2).

25

REIVINDICACIONES

1. Uso de la pentoxifilina para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos.
2. Uso según la reivindicación 1, caracterizado por que dicho envejecimiento prematuro está causado por un déficit de expresión de la hormona antienvjecimiento Klotho.
3. Uso de una composición farmacéutica que comprende pentoxifilina para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos.
4. Uso según la reivindicación 3, caracterizado por que dicha composición farmacéutica comprende pentoxifilina y excipientes farmacéuticamente aceptables.
5. Uso según la reivindicación 4, caracterizado por que dichos excipientes farmacéuticamente aceptables están seleccionados del grupo compuesto por ácido esteárico, cera de carnauba, hipromelosa, lactosa, estearato magnésico, acetato de celulosa, triacetina, lactosa, hipromelosa, dióxido de titanio, triacetina, eritrosina, carmín índigo, laca de aluminio, crospovidona, anhidro silícico coloidal, polietilenglicol, talco y poliacrilato.

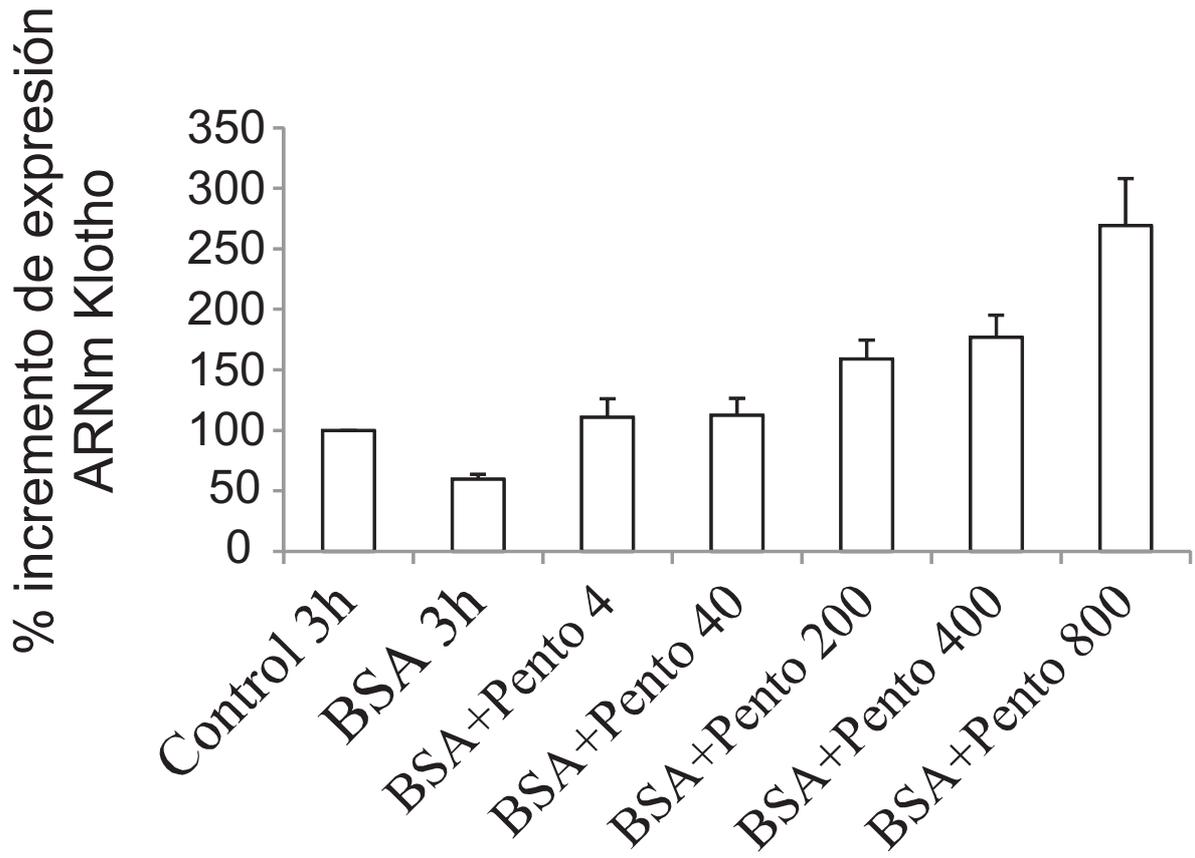


Fig. 1

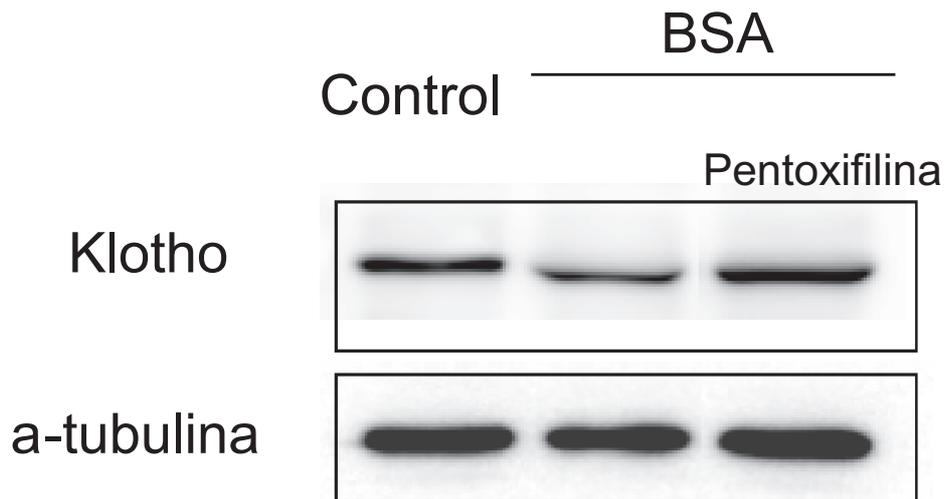


Fig. 2



- ②① N.º solicitud: 201530616
 ②② Fecha de presentación de la solicitud: 06.05.2015
 ③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K31/522** (2006.01)
A61P43/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|---|----------------------------|
| X | WO 0066102 A2 (HOPE CITY) 09/11/2000, Reivindicación 2; página 7, línea 27- página 14; figuras | 1, 3-5 |
| A | PARNETTI, L. y col. THE ROLE OF HEMORHEOLOGICAL FACTORS IN THE AGING BRAIN LONG-TERM THERAPY WITH PENTOXIFYLLINE TRENTAL 400 IN ELDERLY PATIENTS WITH INITIAL MENTAL DETERIORATION. Pharmatherapeutica, 1986, Vol. 4, Nº 10, páginas 617-627. Resumen | 1-5 |
| A | MIQUEL J Causes and prevention of premature aging. Geriatrika, 1994, Vol. 10, Nº 7, páginas 19-24, ISSN 0212-9744. Página 22, párrafo segundo. | 1-5 |

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
30.08.2016

Examinador
E. Albarrán Gómez

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, BIOSIS, EMBASE, MEDLINE, NPL

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 30.08.2016

Declaración

| | | |
|---|-------------------------|-----------|
| Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986) | Reivindicaciones 2 | SI |
| | Reivindicaciones 1, 3-5 | NO |
| Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986) | Reivindicaciones 2 | SI |
| | Reivindicaciones 1, 3-5 | NO |

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 | WO 0066102 A2 (HOPE CITY) | 09.11.2000 |
| D02 | PARNETTI, L. y col... Pharmatherapeutica, 1986, Vol. 4, Nº 10, páginas 617-627. Resumen | 1986 |
| D03 | MIQUEL J...Geriatrka. 1994, Vol. 10, No 7, páginas 19-24, ISSN 0212-9744. Página 22, párrafo segundo. | 30.11.1993 |

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 invención se refiere al uso de la Pentoxifilina y de la composición farmacéutica que la contiene, para elaborar un medicamento para prevenir el envejecimiento prematuro en humanos, envejecimiento causado por un déficit de expresión de la hormona Klotho.

Se llama la atención al solicitante sobre la correcta relación de dependencia en las reivindicaciones dependientes.

El documento D01 tiene por objeto el método de tratar los efectos nocivos del envejecimiento, efectos debidos a la formación de productos finales de glicación y entrecruzamiento de proteínas, consecuencia de la diabetes o el envejecimiento, mediante la administración de un compuesto seleccionado entre Pentoxifilina, Pioglitazona y Metformina.

El documento D02 divulga un estudio en el que los autores concluyen que pacientes de edad avanzada que sufren un deterioro mental en fases iniciales, tratados con Pentoxifilina 3 veces al día, durante 3 meses, mejoran su capacidad psico-intelectual.

El autor del documento D03 en la página 22, columna izquierda, segundo párrafo haciendo referencia a otro artículo anterior de 1991, dice que "una acción estimulante sobre el metabolismo, concretamente un aumento en la síntesis neuronal de ATP, podría explicar el efecto del tratamiento con....pentoxifilina Sobre las funciones mentales de sujetos con incipiente demencia senil.

En base al documento D01 del estado de la técnica, la reivindicación 1 y 3 a 5 carecen de novedad (Art. 6.1 LP 11/1986).

En la invención el uso de la Pentoxifilina va dirigido a un grupo de pacientes que tienen en común un déficit de la hormona Klotho, considerándose este grupo como un nuevo grupo de pacientes ya que se distingue fisiológicamente de los grupos de pacientes descritos en los documentos D01 a D03 y la selección de dicho nuevo grupo no es arbitraria.

En consecuencia, la invención descrita en la reivindicación 2 de la presente solicitud tiene novedad y actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).