

Brigard & Castro
Abogados

Apartado 3692

Cra. 7 16-56
Bogotá - Colombia S.A.

Tel. Conm. 2860777
Tel./Fax: (57.1) 2827976
(57.1) 2846297

E.Mail:bricas@brigardycastro.com.co

AS: 83.297

Señores

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E. S. D.

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00076603 00000002
Fecha (AND): 2001-04-02 16:44:46
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 REPUESTA
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Folios: 120

REF: Expediente No. **00 076603** - Solicitud de Patente
a favor de **SIGMA - TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE**
RIUNITE S.P.A

Titulada: **EL USO DE L - CARNITINE Y SUS DERIVADOS DE**
ALCANOIL COMO AGENTES OSMOTICOS EN LAS
SOLUCIONES PARA USO MEDICO

RAMIRO CASTRO DUQUE, vecino de Bogotá, portador de la tarjeta profesional No. 1003, obrando como apoderado de la sociedad **SIGMA - TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.P.A.**, según lo acredita el documento de poder presentado en esa División, para dar cumplimiento al requerimiento notificado por fijación en lista de fecha 06 de Febrero de 2001, y de acuerdo con el Artículo 120 de la Decisión 486 de la Comunidad Andina, me permito anexar al presente escrito los siguientes documentos:

1. Fotocopia autenticada del documento de poder conferido por el solicitante, debidamente legalizado y autenticado ante Cónsul Colombiano, y autenticado ante el Ministerio de Relaciones Exteriores junto con su correspondiente traducción oficial al español, debidamente avalada por el Ministerio de Relaciones Exteriores.

2. Documento de cesión de derechos sobre la invención a favor del solicitante, junto con su correspondiente traducción oficial al castellano.
3. Extracto para publicación y Tarjeta de archivo temático.
4. Copia certificada por la Oficina Italiana de Patentes de la primera solicitud presentada para la misma invención, de la cual REIVINDICAMOS PRIORIDAD, junto con su correspondiente traducción al castellano.

Del señor Jefe atentamente,



RAMIRO CASTRO DUQUE

C.C. No. 170.322 de Bogotá

Código 340

Cra 7a. No. 16-56 Piso 9

Santafé de Bogotá, Marzo 30, 2001

CPB/hsr.

NOTA:
SE RETIRAN LOS FOLIOS 40 Y
41 QUE CORRESPONDEN A LA
CAMBIO DE MATERIAL PARA
TIGO Y AL EXAMEN
PUBLICACION.
6/09/2002
262046

119

**MINISTERO DELL'INDUSTRIA, DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO**

DIREZIONE GENERALE DELLA PRODUZIONE INDUSTRIALE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per P.C.T.N. PCT/IT99/00317 DEL 11.10.1999

*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito*

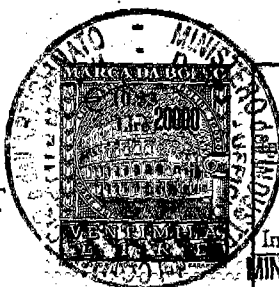
Roma, li

05 OCT 2000

IL DIRETTORE DELLA DIVISIONE
IL DIRIGENTE
Dr. A. CAPONE

PCT

REQUEST



The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty.

HOME COPY

For receiving Office use only

PCT/IT99 / 00317

International Application No.

11 OCT 1999 (11/10/99)

International Filing Date

MINISTERO INDUSTRIA, COMMERCIO e ARTIGIANATO

Direzione Generale per lo sviluppo produttivo e la competitività

- Ufficio italiano brevetti e marchi -

D.M. 19-06-1999

Ministero dell'Industria, del Commercio e dell'Artigianato

Applicant's or agent's file reference

PCT/ST-34

(if desired) (12 characters maximum)

Box No. I TITLE OF INVENTION "Use of L-carnitine and of its alkanoyl derivatives as osmotic agent in solutions for medical use"

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

47, Viale Shakespeare

00144 Rome

ITALY

☐ This person is also inventor.

Telephone No.

06 91 39 39 33

Facsimile No.

06 91 11 984

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality: IT

State (that is, country) of residence: IT

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☒ all designated States except the United States of America

☐ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (that is, country) of residence if no State of residence is indicated below.)

ARDUINI Arduino

701, Via della Camilluccia

00135 Rome

ITALY

This person is:

☐ applicant only

☒ applicant and inventor

☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)

State (that is, country) of nationality: IT

State (that is, country) of residence: IT

This person is applicant for the purposes of:

☐ all designated States

☐ all designated States except the United States of America

☒ the United States of America only

☐ the States indicated in the Supplemental Box

☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☒ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country.)

SPADARO Marco

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

47, Viale Shakespeare

00144 Rome

ITALY

Telephone No.

06 91 39 39 33

Facsimile No.

06 91 11 984

Teleprinter No.

☐ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Box No.V DESIGNATION OF STATES

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a) (mark the applicable check-boxes; at least one must be marked):

Regional Patent

- ☒ AP ARIPO Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, UG Uganda, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT
- ☒ EA Eurasian Patent: AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ EP European Patent: AT Austria, BE Belgium, CH and LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ OA OAPI Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line)

National Patent (if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line):

- | | |
|--|--|
| ☒ AE United Arab Emirates | ☒ LR Liberia |
| ☒ AL Albania | ☒ LS Lesotho |
| ☒ AM Armenia | ☒ LT Lithuania |
| ☒ AT Austria | ☒ LU Luxembourg |
| ☒ AU Australia | ☒ LV Latvia |
| ☒ AZ Azerbaijan | ☒ MD Republic of Moldova |
| ☒ BA Bosnia and Herzegovina | ☒ MG Madagascar |
| ☒ BB Barbados | ☒ MK The former Yugoslav Republic of Macedonia |
| ☒ BG Bulgaria | |
| ☒ BR Brazil | ☒ MN Mongolia |
| ☒ BY Belarus | ☒ MW Malawi |
| ☒ CA Canada | ☒ MX Mexico |
| ☒ CH and LI Switzerland and Liechtenstein | ☒ NO Norway |
| ☒ CN China | ☒ NZ New Zealand |
| ☒ CU Cuba | ☒ PL Poland |
| ☒ CZ Czech Republic | ☒ PT Portugal |
| ☒ DE Germany | ☒ RO Romania |
| ☒ DK Denmark | ☒ RU Russian Federation |
| ☒ EE Estonia | ☒ SD Sudan |
| ☒ ES Spain | ☒ SE Sweden |
| ☒ FI Finland | ☒ SG Singapore |
| ☒ GB United Kingdom | ☒ SI Slovenia |
| ☒ GD Grenada | ☒ SK Slovakia |
| ☒ GE Georgia | ☒ SL Sierra Leone |
| ☒ GH Ghana | ☒ TJ Tajikistan |
| ☒ GM Gambia | ☒ TM Turkmenistan |
| ☒ HR Croatia | ☒ TR Turkey |
| ☒ HU Hungary | ☒ TT Trinidad and Tobago |
| ☒ ID Indonesia | ☒ UA Ukraine |
| ☒ IL Israel | ☒ UG Uganda |
| ☒ IN India | ☒ US United States of America |
| ☒ IS Iceland | |
| ☒ JP Japan | ☒ UZ Uzbekistan |
| ☒ KE Kenya | ☒ VN Viet Nam |
| ☒ KG Kyrgyzstan | ☒ YU Yugoslavia |
| ☒ KP Democratic People's Republic of Korea | ☒ ZA South Africa |
| | ☒ ZW Zimbabwe |
| ☒ KR Republic of Korea | Check-boxes reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet: |
| ☒ KZ Kazakhstan | ☒ .CR .- .DM .- .MA .- .TZ |
| ☒ LC Saint Lucia | ☐ |
| ☒ LK Sri Lanka | ☐ |

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (Confirmation of a designation consists of the filing of a notice specifying that designation and the payment of the designation and confirmation fees. Confirmation must reach the receiving Office within the 15-month time limit.)

Box No. VI PRIORITY CLAIM		☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box.		
Filing date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:		
		national application: country	regional application:* regional Office	international application: receiving Office
item (1)				
item (2)				
item (3)				

☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s):

* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.

Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY

Choice of International Searching Authority (ISA)
(if two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used):

ISA /

Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority):

Date (day/month/year)

Number

Country (or regional Office)

Box No. VIII CHECK LIST: LANGUAGE OF FILING

This international application contains the following number of sheets:

request : 3
description (excluding sequence listing part) : 29
claims : 6
abstract : 1
drawings :
sequence listing part of description :
Total number of sheets : 39

This international application is accompanied by the item(s) marked below:

1. ☒ fee calculation sheet
2. ☐ separate signed power of attorney
3. ☐ copy of general power of attorney; reference number, if any.
4. ☐ statement explaining lack of signature
5. ☐ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s):
6. ☐ translation of international application into (language):
7. ☐ separate indications concerning deposited microorganism or other biological material
8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form
9. ☐ other (specify):

Figure of the drawings which should accompany the abstract:

Language of filing of the international application:

~~English~~

ITALIAN

4 RO

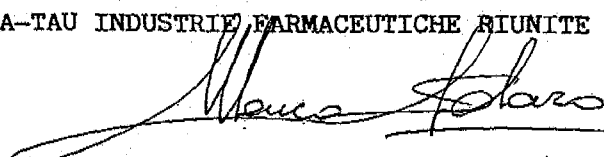
Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT

Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request).

SPADARO Marco

Head of the Patent Department

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.



For receiving Office use only		2. Drawings: ☐ received: ☒ not received:
1. Date of actual receipt of the purported international application:	11 OCT 1999 (11/10/99)	
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent): ISA /	6. ☐ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid.	

For International Bureau use only

Date of receipt of the record copy by the International Bureau:

44

PCT

FEE CALCULATION SHEET Annex to the Request

For receiving Office use only

PCT/TT99 / 00317

International application No.

Applicant's or agent's
file reference

PCT/ST-34

Date stamp of the receiving Office

Applicant

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

CALCULATION OF PRESCRIBED FEES

1. TRANSMITTAL FEE 60.000.= T

2. SEARCH FEE 1.829.000.= S

International search to be carried out by EP

(If two or more International Searching Authorities are competent in relation to the international application, indicate the name of the Authority which is chosen to carry out the international search.)

3. INTERNATIONAL FEE

Basic Fee

The international application contains 39 sheets.

first 30 sheets 799.680.= b1

9 x 19.363.= = 174.267.= b2

remaining sheets additional amount

Add amounts entered at b1 and b2 and enter total at B 937.947.= B

Designation Fees

The international application contains 84 designations.

 x = D

number of designation fees amount of designation fee
payable (maximum 10)

Add amounts entered at B and D and enter total at I 937.947.= I

(Applicants from certain States are entitled to a reduction of 75% of the international fee. Where the applicant is (or all applicants are) so entitled, the total to be entered at I is 25% of the sum of the amounts entered at B and D.)

4. FEE FOR PRIORITY DOCUMENT (if applicable) P

5. TOTAL FEES PAYABLE 2.826.947.=

Add amounts entered at T, S, I and P, and enter total in the TOTAL box

TOTAL

☒ The designation fees are not paid at this time.

MODE OF PAYMENT

☐ authorization to charge
deposit account (see below)

☒ bank draft

☐ coupons

☐ cheque

☐ cash

☐ other (specify):

☐ postal money order

☐ revenue stamps

DEPOSIT ACCOUNT AUTHORIZATION (this mode of payment may not be available at all receiving Offices)

The RO/ ☐ is hereby authorized to charge the total fees indicated above to my deposit account.

☐ (this check-box may be marked only if the conditions for deposit accounts of the receiving Office so permit) is hereby authorized to charge any deficiency or credit any overpayment in the total fees indicated above to my deposit account.

☐ is hereby authorized to charge the fee for preparation and transmittal of the priority document to the International Bureau of WIPO to my deposit account.

Deposit Account No.

Date (day/month/year)

Signature

**“Uso della L-carnitina e dei suoi alcanoli derivati come agente
osmotico in soluzioni per uso medico”.**

La presente invenzione si riferisce all'uso della L-carnitina e dei suoi alcanoli derivati, eventualmente sotto forma di un sale
5 farmaceuticamente accettabile, come agente osmotico in soluzioni per uso medico, in particolare nella dialisi peritoneale.

Sfondo dell'invenzione

La popolazione sofferente di malattie renali terminali (note in ambito internazionale come End-Stage Renal Disease o ESRD)
10 sottostare a terapie dialitiche o sottoporsi a trapianto di rene. Entrambi gli interventi terapeutici sono estremamente gravosi, sia dal punto di vista della qualità della vita del paziente, sia in termini di costi sociali; per una rassegna della terapia dialitica si veda ad esempio Pastan S. e Bailey J. in The New England Journal of Medicine, 14 maggio 1998,
15 pagine 1428-1436, qui interamente incorporato per riferimento.

La terapia dialitica comprende due tipi di trattamento, rispettivamente la dialisi peritoneale e l'emodialisi. Tra i due tipi di dialisi vi sono differenze importanti, quali, nel caso dell'emodialisi, il costo della terapia, la richiesta di reparti dedicati con costose
20 attrezzature e personale qualificato, la qualità di vita del paziente. Per contro, la dialisi peritoneale gode di maggior favore per la sua semplicità di esecuzione, che può essere praticata dal paziente stesso come automedicazione. Ad esempio in Italia il 15% dei dializzati ricorre alla dialisi peritoneale, quanti negli Stati Uniti d'America (16%), mentre



questi valori salgono nel caso del Canada (38%), Regno Unito (52%), fino al 90% del Messico. La ragione della disparità di queste cifre va anche vista nel costo inferiore rispetto all'emodialisi, che non tutti i sistemi sanitari nazionali sono disposti a garantire. Ma non bisogna trascurare che la dialisi peritoneale consente al paziente di mantenere uno stile di vita meno costretto, dal momento che la sessione dialitica può essere programmata con una certa autonomia durante la normale attività della persona. Inoltre, dispositivi automatici permettono anche la dialisi durante le ore notturne.

10 Nonostante ciò, la scelta tra i due tipi di dialisi non è del tutto libera, ad esempio la dialisi peritoneale è indicata per pazienti con insufficienza cardiaca o angina instabile che non sopportano alterazioni di flusso e/o pressione arteriosa che accompagnano la sessione emodialitica (si veda il riferimento sopra citato).

15 Si può ipotizzare un cammino terapeutico per il paziente ESRD che parte dalla dialisi peritoneale e, attraverso l'emodialisi, arriva alla necessità del trapianto di organo.

La dialisi peritoneale non è priva di svantaggi ed effetti indesiderati. Gli inconvenienti si possono identificare in due categorie, seppure interconnesse: effetti clinici indesiderati e problemi tecnologici. La presente invenzione si propone di risolvere gli svantaggi e gli effetti indesiderati.

Nell'esecuzione tipica di una seduta di dialisi peritoneale, un catetere di plastica viene impiantato nella cavità peritoneale e ancorato

ai tessuti sottocutanei. Una soluzione dialitica contiene quantità fisiologiche di sodio, calcio, magnesio, tampone fisiologicamente compatibile e un agente osmotico non tossico, tale da rendere la soluzione iperosmolare rispetto al plasma. La soluzione viene infusa
5 attraverso il catetere nella cavità peritoneale per rimanervi per diverse ore. Durante questo tempo, la membrana peritoneale scambia per diffusione soluti, in modo da sostituire fluido fresco. Dato che la funzione renale diminuisce nei primi anni di dialisi, la dose di liquido dialitico da scambiare aumenta nel tempo.

10 La peritonite è la complicazione grave che ricorre con maggiore frequenza. Altri tipi di complicazioni sono la perdita di ammino acidi e albumina, la incompatibilità della soluzione dialitica, effetti di volume nella cavità peritoneale, conseguenze metaboliche, sintomi a carico dell'apparato digerente, diminuzione dell'appetito e altri, per una
15 rassegna si veda Charles M. Mion e R.Gokal e N.P. Mallick, Lancet, 1999; 353; 823-28.

Uno dei problemi più sentiti nel settore della dialisi peritoneale è la scelta di un opportuno agente osmotico.

Tra i requisiti di una soluzione ideale per dialisi peritoneale vi
20 sono:

- fornire il fabbisogno nutrizionale, evitando effetti metabolici collaterali;
- avere un assorbimento minimo di agente osmotico, che comunque non deve essere tossico;

- essere in grado di correggere l'acidosi e avere un pH fisiologico;
- oltre a considerazioni con implicazioni tecnologiche, quali l'apirogenicità, l'assenza di metalli, residui di materiali sintetici, la soluzione deve anche inibire la crescita batterica e fungina, non
- 5 danneggiare le difese immunitarie e deve essere inerte verso la membrana peritoneale.

Una tipica soluzione per dialisi peritoneale comprende glucosio, in diverse concentrazioni, come agente osmotico, e diverse quantità di lattato (che ha sostituito l'acetato a causa di diversi problemi di

10 intolleranza da parte del paziente), sodio, potassio e calcio. Anche i sistemi tampone sono stati studiati, nel tentativo di ovviare al problema della sterilizzazione e stabilizzazione della soluzione.

Per quanto riguarda l'aspetto della sterilizzazione, questo è un problema tecnologico critico, infatti, la sterilizzazione termica,

15 comunemente utilizzata nel settore delle soluzioni per uso medico, provoca la degradazione del glucosio, con la conseguente produzione di derivati secondari tossici, quali aldeidi e 5-idrossimetilfurfurale. Tradizionalmente, la sterilizzazione termica della soluzione contenente glucosio (indicato anche come destrosio) viene effettuata a pH tra 5,0

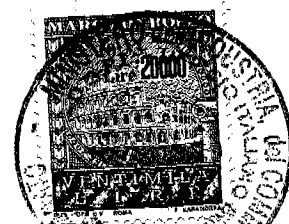
20 e 5,5, proprio per evitare la caramellizzazione del glucosio. Il pH acido comporta ulteriori problemi al paziente che utilizza la soluzione, ad esempio dolore addominale e sclerosi della membrana peritoneale, il che comporta la diminuzione dell'eliminazione dei soluti (Schmidt e al. Arch.Int.Med., 141:1265-1266, 1980).

La presente invenzione ha anche lo scopo di fornire una soluzione ai problemi connessi all'utilizzo del glucosio come agente osmotico nelle soluzioni per dialisi peritoneale.

Il glucosio è ampiamente utilizzato per la sua grande disponibilità sul mercato e basso costo. È una sostanza relativamente sicura, ma l'utilizzo in elevate concentrazioni e il pronto assorbimento comporta tempi brevi di ultrafiltrazione, complicazioni metaboliche, quali iperinsulinemia, iperlipidemia, aumento di peso. Inoltre, l'iperosmolarità e il basso pH possono danneggiare il mesotelio e i macrofagi. Inoltre, la potenziale glicosilazione delle proteine dello stroma comporta un ulteriore danno al peritoneo. Si riportano anche la inibizione della fagocitosi, dell'attività battericida della sintesi di LTB₄ nei neutrofili di sangue periferico. Nella dialisi peritoneale continua ambulatoriale (Continuous Ambulatorial Peritoneal Dialysis, CAPD), dove il tempo di applicazione arriva anche oltre 6 ore, per poter mantenere la capacità di ultrafiltrazione, le concentrazioni di glucosio sono molto elevate. Per una rassegna della biocompatibilità delle soluzioni per dialisi peritoneale si veda anche C.J. Holmes in Peritoneal Dialysis International, Vol. 13, pp.88-94, 1993.

Per superare i problemi dati dall'utilizzo di glucosio come agente osmotico nella dialisi peritoneale, lo stato dell'arte indirizza l'esperto del settore verso due distinte tipologie di soluzione:

- 1) l'uso di agenti osmotici a basso peso molecolare, in grado di sostenere l'ultrafiltrazione con minimi effetti metabolici, senza però



alterare il profilo di ultrafiltrazione;

- 2) l'uso di agenti osmotici ad alto peso molecolare nel tentativo di agire su entrambi i fattori.

Delle diverse proposte di agenti a basso peso molecolare, ad oggi
5 solo il glicerolo e le miscele di amminoacidi sembrerebbero mostrare un certo interesse in clinica. Ad esempio, in Italia è in vendita una soluzione poliamminoacidica 1,1% con il marchio Nutrineal® PD2 e PD4 della Baxter.

Queste proposte alternative al glucosio non sono prive di
10 problemi: altri saccaridi danno effetti metabolici, ad esempio il fruttosio dà ipertrigliceridemia e iperosmolalità, il sorbitolo iperosmolalità e accumulo, lo xilitolo acidosi lattica e iperosmolalità, il glicerolo è ben tollerato, ma la capacità di ultrafiltrazione ha breve durata e dà anche iperosmolalità, è anche stato riportato un effetto negativo sui fagociti
15 (de Fijter CWH e al., Advances in Continuous Ambulatorial Peritoneal Dialysis. Toronto, Peritoneal Dialysis Publication, 1991: 154-7), gli amminoacidi, sebbene utili in pazienti malnutriti, danno luogo ad acidosi e aumentano il carico azotato, che in un paziente uremico è controindicato. Per contro, gli agenti ad alto peso molecolare mostrano
20 una serie di svantaggi loro propria, quali possibile immunogenicità per i peptidi, assorbimento, sanguinamento intraperitoneale (dimostrato nei ratti) e ultrafiltrazione per i destrani (PM 60-200 KDa), instabilità cardiovascolare, danno peritoneale ed emorragia per polianioni e cationi (PM 40-90 KDa), emivita prolungata, immunogenicità,

allergenicità e viscosità elevata della soluzione per le gelatine (PM 20-390 KDa), ritenzione di maltosio per i polimeri del glucosio.

Purtroppo, effetti indesiderati della soluzione per dialisi peritoneale non derivano solo dall'agente osmotico scelto, ma anche da
5 altri componenti della soluzione. Ad esempio il lattato, quando combinato con il basso pH della soluzione, necessario per poter effettuare la sterilizzazione, sopprime diversi aspetti funzionali dei leucociti periferici e peritoneali, inibisce la produzione di IL-6 e TNF α da parte delle cellule mononucleate.

10 Nella sua rassegna sugli agenti osmotici, Gokal concludeva nel 1990 che al momento non vi era un agente osmotico in grado di rimpiazzare il glucosio (Coles GA, Davies M, Williams JD (eds): CAPD: Host Defence, Nutrition and Ultrafiltration. Contrib. Nephrol. Basel, Karger, 1990, vol. 85, pp. 126-133).

15 Lo sforzo per offrire un agente osmotico alternativo al glucosio, che risponda, o per lo meno si avvicini ai requisiti della soluzione "ideale" è enorme. Tra i numerosi riferimenti brevettuali si cita il brevetto JP 11071286, a nome Terumo Corp., che descrive una soluzione dove l'agente osmotico consiste in una miscela di glucosio e
20 maltosio in rapporti molari 1:0,05-5 e pressione osmotica di 280-600 mOsm/kg a pH 6,0-7,5, con migliorate caratteristiche di rimozione di acqua e minor assorbimento di glucosio. Per pazienti diabetici, obesi, la stessa ditta fornisce un agente osmotico complesso, formato da un N-acetilammino acido (L-amminoacido), N-acetil-D-glucosammina,

acido glucuronico e/o ascorbico (brevetto JP 11071273). Miscele di
saccaridi con alcoli esavalenti aliciclici, acido esonico e acido saccrico
sono descritte in JP 11049671, a nome Baxter Int. Inc. La domanda
WO 9901144, Allied Therapeutics Ltd, descrive di- e trisaccaridi
5 idrogenati sintetici. Il brevetto MX 9601855, Trevino, utilizza destrano
60. Ancora la Baxter, nel brevetto JP 10094598, proponeva
oligosaccaridi o polisaccaridi non riducenti contenenti da 3 a 12
residui. Nella domanda WO 9801141, Bieffe Medital SpA, si descrive
l'uso di glicosamminoglicani, privi di attività anticoagulante o
10 emorragica. Nei brevetti US 5629025, US 5589197, US 5631025, a
nome Baxter International Inc. si descrivono soluzioni per dialisi
peritoneale a basso contenuto di sodio, per le quali sono previsti come
agenti osmotici sostanze contenenti almeno un amminoacido o un
polipeptide, oppure un poliglucosio. L'Università del Missouri fornisce
15 gelatina reticolata per via chimica come agente osmotico a parziale o
totale sostituzione del glucosio (US 4604379). Idrolizzati di amido sono
descritti in US 5837060, a nome Roquette Freres. Nel brevetto JP
7323084, Morishita Roussel KK e Ajinomoto Co. Inc., è descritto l'uso
del trealosio per preparare soluzioni neutre, in sostituzione del
20 glucosio. Si veda anche US 4761237.

Trattando in maggior dettaglio gli agenti osmotici a basso peso
molecolare, cui si riferisce la presente invenzione, lo stato dell'arte
fornisce un insegnamento diretto all'utilizzo di amminoacidi o brevi
peptidi, vantaggiosi dal punto di vista del supporto nutrizionale di

pazienti malnutriti. La Baxter International Inc. fornisce nel suo brevetto US 5776503 una miscela di amminoacidi molto complessa, ma ad oggi ancora insuperata, pur avendo un costo molto elevato, dalle molte alternative proposte. Il brevetto US 5780438, a nome Giltech
5 Limited, descrive una soluzione stabile, dove l'agente osmotico è costituito da una miscela di peptidi ottenuti dalla proteolisi della caseina o delle proteine del siero del latte. Il brevetto US 5869444, a nome Research Corporation Technologies, discute ampiamente le alternative al glucosio e indirizza l'esperto del settore verso gli agenti
10 osmotici a basso peso molecolare di natura amminoacidica. Tuttavia, pur ammettendo il beneficio nutrizionale, già citato prima, si sottolinea lo svantaggio del costo elevato, dell'aumento del carico di azoto nel sangue. Quindi, in questo brevetto si propone l'utilizzo di oligopeptidi (300-2000 Da) derivanti dall'idrolisi enzimatica di proteine di elevata
15 qualità, come dal siero del latte, vantaggiosi sia dal punto di vista funzionale della dialisi, sia dal punto di vista nutrizionale. In questo brevetto, tuttavia si avverte l'esigenza di un processo di idrolisi e separazione molto accurato e controllato, per evitare il rischio di componenti ad elevato peso molecolare, potenziali antigeni o allergeni.
20 Tra le fonti proteiche, sono citati il collagene, il cui uso oggi è messo però in dubbio per i problemi di contaminazione prionica (BSE, scrapie), proteine del latte, ma non la caseina, e altre. Nel corso della descrizione, gli inventori ammettono una serie di difficoltà nell'assicurare la qualità del procedimento di idrolisi.



Relativamente ad altri aspetti della dialisi peritoneale si citano DE 19748290, WO 991762, JP 10330270, WO 9852599, WO 9850060, CA 2219822, WO 9917762 e US 5827820.

Tutti i documenti citati sono qui incorporati per riferimento.

5 **Riassunto dell'invenzione**

E' stato sorprendentemente trovato che la L-carnitina, o, in alternativa o in combinazione con i suoi derivati con alcanoile inferiore, è utile come agente osmotico nella preparazione di soluzioni per dialisi peritoneale, e in generale come agente osmotico per soluzioni per uso
10 medico.

È un oggetto della presente invenzione l'uso della L-carnitina e dei suoi alcanoil derivati inferiori, dove per alcanoil derivato inferiore si intende un residuo acilico alifatico, lineare o ramificato avente da 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di un sale
15 farmaceuticamente accettabile, come agente osmotico in soluzioni per uso medico, in particolare per la preparazione di soluzioni per dialisi peritoneale. Sono anche oggetto della presente invenzione soluzioni per uso medico caratterizzate dal fatto che l'agente osmotico è la L-carnitina, o un suo alcanoil derivato, come definito sopra,
20 eventualmente in combinazione tra loro o anche in associazione con uno o più agenti osmotici noti.

La L-carnitina e i suoi alcanoil derivati inferiori sono noti per diversi usi terapeutici. In particolare, il brevetto US 4327167, a nome della richiedente, descrive l'utilizzo delle alcanoil carnitine, come intese

sopra, in un metodo terapeutico per il trattamento di pazienti uremici cronici sottoposti a regolare dialisi. Sono anche descritte soluzioni polisalini per emodialisi contenenti un'alcanoil carnitina. Il brevetto EP 0793962, a nome della richiedente, descrive l'uso di propionil L-carnitina per la preparazione di un medicamento utile per il
5 trattamento selettivo dell'arteriosclerosi cronica obliterante (claudicatio intermittens). Il brevetto IT 1155772, a nome della richiedente, descrive l'uso di alcanoil L-carnitina nella terapia dell'anossia miocardica, dell'ischemia, delle sindromi aritmiche e delle insufficienze
10 cardiache. Il brevetto US 4255449, a nome della richiedente, descrive l'uso di L-carnitina nel trattamento delle dislipidemie. La domanda di brevetto WO 9906039, a nome della richiedente, descrive l'uso di L-carnitina e dei suoi alcanoil derivati in associazione con policosanoli per il trattamento di dislipidemie. Vi sono numerose descrizioni di
15 associazioni di L-carnitina e alcanoil derivati in associazione con altri principi attivi, ad esempio acido gamma-linolenico (si veda WO 9841113) per la cura e prevenzione degli effetti collaterali del diabete mellito, in particolare la neuropatia periferica.

Il brevetto US 4272549 insegna l'uso di particolari regimi di
20 somministrazione di L-carnitina, combinati per via orale e endovena per combattere la sindrome post-dialitica in pazienti uremici che si sottopongono a regolare trattamento di emodialisi.

Il brevetto US 4237167 insegna l'uso di particolari regimi di somministrazione di acil L-carnitine, combinati per via orale e

endovena per combattere la sindrome post-dialitica in pazienti uremici che si sottopongono a regolare trattamento di emodialisi.

La domanda di brevetto WO 9907419, a nome Gupta, descrive composizioni per dialisi comprendenti una quantità efficace di almeno una vitamina scelta nel gruppo che consiste di acido folico, vitamina B₆, tiamina, vitamina B₁₂, eventualmente vitamina C e/o carnitina. Lo scopo di queste preparazioni è compensare la perdita di vitamine cui vanno incontro i pazienti in dialisi, sia emodialisi, sia dialisi peritoneale. Le quantità efficaci sono indicate nella descrizione. Per la L-carnitina libera, è specificata una quantità minore di 50 $\mu\text{mol/l}$ nel dializzato durante ogni sessione di dialisi, per la prevenzione di deficienze di vitamine e carnitina. Le concentrazioni preferite sono comprese tra 50 e 300 $\mu\text{mol/l}$. Quindi, la quantità di L-carnitina presente nelle soluzioni descritte da Gupta è inferiore alla quantità necessaria perché la L-carnitina agisca come agente osmotico.

Il vantaggio di utilizzare la L-carnitina o un suo alcanoil derivato, come definito sopra, è molteplice. La sostituzione del glucosio con la L-carnitina, o di un suo alcanoil derivato, elimina gli effetti indesiderati descritti sopra. Inoltre le carnitine (intese come L-carnitina o i suoi alcanoil derivati come definiti nella presente invenzione) sono compatibili con il tampone bicarbonato, ovviando perciò allo svantaggio di dover utilizzare soluzioni a pH inferiore a quello fisiologico, come il pH 5,0-5,5 tipico di soluzioni con glucosio.

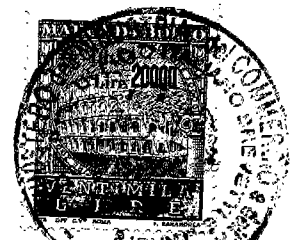
L'uso di carnitine, in particolare di L-carnitina, acetil L-

carnitina, propionil L-carnitina, è ulteriormente vantaggioso rispetto ad altri agenti osmotici noti perché le carnitine sono sostanze non tossiche, ben tollerate e prive di effetti indesiderati ai dosaggi descritti sotto. A differenza degli amminoacidi, le carnitine non entrano nel
5 metabolismo proteico, quindi non aggravano il carico di azoto del paziente uremico. Per quanto riguarda la differenza con agenti osmotici ad alto peso molecolare, il vantaggio è immediato: le carnitine sono sostanze naturali, presenti negli esseri viventi, in particolare mammiferi, uomo incluso. Per tale motivo è eliminato il rischio di
10 introdurre nell'organismo sostanze xenobiotiche.

Inoltre, l'utilizzo delle carnitine come agente osmotico fornisce la quantità necessaria di L-carnitina al paziente in dialisi per compensare le perdite di carnitina che avvengono durante la seduta dialitica. Sui livelli di carnitine nei pazienti sottoposti a CAPD si veda
15 Kidney Int. 1996 Jan; 49(1): 158-62 e Perit Dial Int. 1993; 13 Suppl 2.

Come ulteriore vantaggio dall'applicazione della presente invenzione, la carnitina, utilizzata come agente osmotico, oltre a compensare le perdite di carnitina, ha anche la possibilità di svolgere gli effetti terapeutici suoi propri in una serie di patologie correlate con
20 l'insufficienza renale. Ad esempio le patologie descritte nei brevetti sopra citati.

L'invenzione sarà ora descritta in dettaglio anche per mezzo di esempi. Ulteriori oggetti della presente invenzione, con i relativi vantaggi saranno apparenti all'esperto del settore cui la presente



invenzione si riferisce.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

Per alcanole inferiore si intende un residuo acile avente da 2 a 8 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 6, quale acetile, propionile, 5 butirile, isobutirile, valerile, isovalerile, 2-metilbutirile, 2,2-dimetilpropionile, esanoile, eptanoile, ottanoile e tutti i loro possibili isomeri.

La presente invenzione prevede l'uso delle carnitine come sale interno. Se lo si ritiene opportuno, è anche possibile utilizzare un loro 10 sale farmaceuticamente accettabile. Per sale farmaceuticamente accettabile della L-carnitina o di una alcanole L-carnitina si intende qualsiasi sale di questa con un acido che non dia origine ad indesiderati effetti tossici o collaterali. Tali acidi sono ben noti ai farmacologi ed agli esperti di tecnologia farmaceutica.

15 Esempi non limitativi di sali farmacologicamente accettabili della L-carnitina o delle alcanole L-carnitine sono cloruro, bromuro, orotato, aspartato acido, citrato acido, fosfato acido, fumarato e fumarato acido, maleato e maleato acido, ossalato acido, solfato acido, glucosio fosfato, tartrato e tartrato acido. Sono preferiti i sali con 20 fumarato, aspartato, citrato e maleato.

Sono anche oggetto della presente invenzione soluzioni per dialisi peritoneale, sia sotto forma di soluzioni pronte all'uso, sia sotto forma di concentrato da diluire al momento dell'uso, comprendenti un agente osmotico secondo la presente invenzione.

I dosaggi, la posologia e il regime terapeutico in generale saranno determinati dal medico curante secondo la sua conoscenza, le condizioni del paziente e l'entità della patologia da trattare.

In una sua prima realizzazione preferita, la presente invenzione
5 comprende la L-carnitina, sale interno.

In una seconda realizzazione preferita la L-carnitina è sotto forma di sale con l'acido fumarico. Pur non volendo essere legata ad alcuna teoria, la richiedente ritiene che il sale di fumarato possa essere particolarmente vantaggioso per supplire al fabbisogno energetico del
10 paziente dialitico. Infatti, il fumarato è un substrato energetico, utile nel trattamento delle ischemie d'organo. La richiedente ha dimostrato l'efficacia della L-carnitina fumarato nel trattamento delle ischemie d'organo, in particolare l'ischemia cardiaca, come descritto nella domanda di brevetto 99RM0003328, qui incorporata per riferimento.

15 In una terza realizzazione della presente invenzione è prevista la combinazione tra L-carnitina e acetil L-carnitina. Questa combinazione è ulteriormente vantaggiosa per fornire un supplemento di acetil L-carnitina al paziente.

Nella descrizione delle possibili realizzazioni dell'invenzione per
20 carnitina si intende la L-carnitina, come sale interno o come sale con un acido farmaceuticamente accettabile, come descritto sopra, da sola o in associazione con un suo alcanoil derivato, come sale interno o come sale con un acido farmaceuticamente accettabile, o un suo alcanoil derivato, come sale interno o come sale con un acido

farmaceuticamente accettabile.

In un primo aspetto della presente invenzione, la carnitina è utilizzata come agente osmolare a totale sostituzione del glucosio.

Le concentrazioni di carnitina sono quelle sufficienti ad agire
5 come agente osmotico e sono previste fino a una concentrazione fisiologicamente tollerabile. Si intende che la concentrazione di carnitina sarà tale da assicurare un effetto soddisfacente per gli usi intesi nella presente invenzione. In particolare, è considerato
soddisfacente l'effetto ottenuto che possa essere considerato un effetto
10 terapeutico compreso nei significati di dialisi peritoneale.

Dove non altrimenti specificato, le concentrazioni sono intese in peso/volume (p/v).

Esempi di concentrazione sono da circa 0,5 a circa 10%,
preferibilmente da circa 0,7 a circa 7%, più preferibilmente da circa 1
15 a circa 5%. In una tipica realizzazione della presente invenzione, le concentrazioni di carnitina sono quelle normalmente utilizzate per il glucosio nelle preparazioni commerciali, ossia tra 1,5% e 4,25%.

È inteso che l'esperto del settore sarà in grado di determinare le concentrazioni efficaci a seconda del tipo di soluzione utilizzata.
20 Esempi sono concentrazioni a partire da circa 0,5%.

Se desiderato, in alternativa, la carnitina può essere utilizzata a parziale sostituzione del glucosio. Le percentuali di carnitina e di glucosio possono essere liberamente variate fra di loro, con la condizione che si ottenga un effetto soddisfacente per gli usi intesi

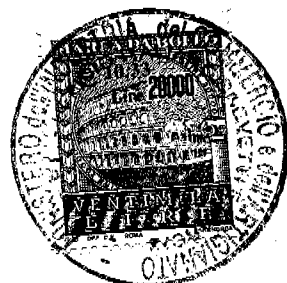
nella presente invenzione. Esempi di combinazioni con glucosio sono 4,0% glucosio - 0,25% carnitina; 1,0% glucosio - 0,5% carnitina; 0,5% glucosio - 1,0% carnitina; 0,25% glucosio - 4,0% carnitina. È preferita la combinazione 0,5% glucosio - 1,0% carnitina.

5 Altre possibili realizzazioni dell'invenzione sono l'associazione di carnitina come agente osmotico con altri agenti osmotici noti, ad esempio è preferita l'associazione con amminoacidi, quali le formulazioni già presenti in commercio, oppure con i dipeptidi e o polipeptidi dei brevetti citati sopra. Una realizzazione particolarmente
10 vantaggiosa è l'utilizzo della carnitina nelle doppie sacche descritte nel brevetto DE 19748290, che utilizza tampone bicarbonato. Utile è anche l'aumento delle dosi di carnitina, in particolare L-carnitina nelle soluzioni descritte in WO 9907419 fino ad arrivare ad una concentrazione efficace come agente osmolare.

15 In un'altra possibile realizzazione, l'agente osmotico secondo la presente invenzione è utilizzato in combinazione con gli agenti osmotici descritti nel brevetto US 5827820, a nome Baxter International Inc..

 È anche previsto l'uso dell'agente osmotico secondo la presente invenzione in combinazione con agenti osmotici ad alto peso
20 molecolare, quali ad esempio quelli descritti nei riferimenti sopra citati, in particolare la icodestrina.

 In una particolare realizzazione della presente invenzione, si aggiunge alla soluzione per dialisi peritoneale un tensioattivo (o



surfattante) normalmente utilizzato in questo settore. Si fa menzione specifica della palmitoil L-carnitina.

Sono uno specifico oggetto della presente invenzione soluzioni per uso medico caratterizzate dal fatto che l'agente osmolare è la L-carnitina, e/o i suoi alcanoil derivati, nei quali l'alcanoile è un residuo
5 alifatico, lineare o ramificato avente da 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di un sale farmaceuticamente accettabile. Sono un particolare oggetto della presente invenzione soluzioni per dialisi peritoneale.

10 Per quanto riguarda gli aspetti attinenti l'applicabilità industriale, le soluzioni oggetto della presente invenzione saranno contenute in appositi contenitori per dialisi peritoneale, generalmente sacche in adatto materiale compatibile per uso medico. Contenitori per dialisi peritoneale sono noti all'esperto del settore e non necessitano di
15 particolare descrizione, rinviando alla letteratura specifica e alle conoscenze generali del settore tecnico cui l'invenzione fa riferimento. Esempi sono sacche a camera singola o a camera multipla, ad esempio doppia, oppure sacche separate contenenti soluzioni diverse da miscelare al momento dell'uso anche per mezzo di apparecchi
20 automatici. Contenitori per dialisi peritoneale comprendenti una soluzione secondo la presente invenzione rientrano nell'ambito di protezione della presente domanda di brevetto.

La presente invenzione è ora descritta per mezzo di prove sperimentali che ne permettono l'attuazione della realizzazione

preferita. È pienamente sottinteso che realizzazioni equivalenti, che rientrano nell'ambito della presente invenzione sono attuabili dal tecnico medio del settore ricorrendo unicamente alla propria conoscenza generale, anche con il metodo dei tentativi ed errori, senza
5 bisogno di ulteriore descrizione da parte della presente invenzione.

Studi di trasporto in vitro

Il trasporto di fluido in vitro è stato effettuato usando dei tubi costituiti da membrane semipermeabili di cellulosa i quali contenevano le diverse soluzioni di dialisi.

10 Soluzioni tampone sono state aggiunte di concentrazioni scalari di carnitina (0,5, 1,0, e 1,5 %) in un tampone bicarbonato (30 mM) e NaCl (100 mM) a pH 7,2. Una soluzione di glucosio 1,5 % è stata usata, come riferimento.

La composizione delle soluzioni tampone è la seguente: sodio
15 134 mmol/l, calcio 1,75 mmol/l, magnesio 0,5 mmol/l. Le soluzioni contenenti glucosio sono state tamponate a pH 5,5 con 35 mmol/l di L-lattato. Le soluzioni contenenti carnitina sono state tamponate come per il glucosio ovvero a pH 7,0-7,6 con 34 mmol/l di bicarbonato. Nei tubi venivano posti 10 ml delle diverse soluzioni di dialisi e tali tubi
20 venivano sospesi in un cilindro graduato da 1 litro riempito di soluzione 0,9% di NaCl. Il bagno di salina veniva fatto ricircolare ad una velocità di 500 ml/min con un flusso diretto lungo l'asse maggiore del tubo da dialisi con una pompa da infusione. La quantità di fluido richiamato all'interno del tubo veniva determinata gravimetricamente,
25 dopo aver rimosso con un foglio di carta assorbente il fluido aderente

./.

alle pareti della membrana. Il tubo veniva quindi riposto all'interno del cilindro e sottoposto a successive misure di peso a diversi tempi: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min.

In tabella 1 è stato riportato l'incremento di peso del fluido
5 richiamato dalla soluzione da dialisi nel corso del tempo.

TABELLA 1.

Trasporto di fluido indotto da 10 ml di liquido contenente diverse
concentrazioni di carnitina o glucosio.

10

Tempi (min)	Carnitina 0,5% (g di fluido)	Carnitina 1,0% (g di fluido)	Carnitina 1,5% (g di fluido)	Glucosio 1,5% (g di fluido)
15	0,02±0,01	0,07±0,02	0,10±0,01	0,09±0,02
30	0,06±0,01	0,13±0,02	0,26±0,03	0,19±0,03
45	0,10±0,03	0,20±0,03	0,30±0,02	0,27±0,02
60	0,12±0,02	0,22±0,03	0,35±0,04	0,31±0,04
90	0,17±0,03	0,33±0,03	0,48±0,04	0,41±0,04
120	0,19±0,02	0,36±0,03	0,54±0,04	0,47±0,04
180	0,21±0,03	0,42±0,04	0,66±0,04	0,54±0,04
240	0,27±0,02	0,49±0,03	0,77±0,05	0,59±0,04
300	0,29±0,02	0,51±0,03	0,77±0,04	0,63±0,05
360	0,27±0,03	0,48±0,04	0,74±0,05	0,62±0,04

I valori rappresentano la media (n=3) ±D.S. di 3 diversi
esperimenti

L'incremento di peso del tubo da dialisi in funzione delle diverse concentrazioni di carnitina aumenta progressivamente nel tempo. Il plateau viene raggiunto per tutte le concentrazioni saggiate a 240 minuti. L'andamento dei campioni contenenti glucosio 1.5% è paragonabile ai campioni contenenti carnitina 1,5%.

Esperimento in vivo

L'esperimento di dialisi peritoneale è stato condotto su ratti Sprague-Dawley maschi del peso di 500-600 g (Charles River) mantenuti con una dieta standard ed acqua ad libitum. Gli animali venivano anestetizzati con un'iniezione intraperitoneale di inactina (100 mg/kg) ed erano posti su un tavolo operatorio a temperatura controllata. Sugli animali veniva effettuata una tracheostomia per incannulare la vena giugulare sinistra con un tubo in silicone medicale PE50. Gli animali, 30 minuti dopo la somministrazione dell'anestetico, venivano infusi con una soluzione salina alla velocità di 2,3 ml/hr per tutto il periodo dell'esperimento. La soluzione di dialisi (15 ml), dopo essere stata preriscaldata a 37°C, veniva inoculata nella cavità peritoneale con un agocannula in teflon da 15, 1 hr dopo la somministrazione dell'anestetico. La quantità di fluido iniettato veniva determinata pesando la siringa prima e dopo l'iniezione del liquido, usando una bilancia elettronica. Alla fine di ogni tempo di analisi (2, 4, 6 hr) l'addome dei ratti veniva inciso con un bisturi elettrico e tutto il fluido presente nel peritoneo veniva aspirato con una siringa da 1 ml. Dopo aver rimosso il liquido superficiale, gli intestini venivano con cura spostati dalla cavità addominale per raccogliere il residuo di fluido che

rimaneva sulla parete dorsale. Il liquido recuperato veniva posto in un beaker e pesato. La variazione di peso rispetto al tempo 0, rappresentava la quantità di liquido richiamata dalla soluzione peritoneale iniettata.

5 Sono stati effettuati una serie di esperimenti in vivo seguendo il modello sperimentale sopra descritto per valutare la capacità di trasporto di diversi fluidi di dialisi contenenti carnitina.

I dati relativi al peso iniziale e finale del fluido recuperato dal peritoneo degli animali ai differenti tempi venivano usati per calcolare
10 l'incremento percentuale di volume in ogni animale.

In Tabella 2 vengono riportati i dati relativi ad un esperimento in cui veniva utilizzato come liquido da dialisi glucosio a diverse concentrazioni (1,5, 2,5, 4,25%). Tali soluzioni iperosmotiche costituiscono il nostro controllo in quanto sono quelle usate
15 comunemente nella pratica clinica.

TABELLA 2.

Variazioni percentuali del volume di liquido recuperato da ratti
sottoposti a dialisi peritoneale con 15 ml di soluzione contenente
diverse concentrazioni di glucosio.

5

Soluzioni	Incremento % di volume (2 hr)	Incremento % di volume (4 hr)	Incremento % di volume (6 hr)
Glucosio 1,5%	21,1±1,5	21,5±1,9	21,7±1,6
Glucosio 2,5%	35,2±1,4	35,9±1,3	36,8±1,5
Glucosio 4,25%	59,8±1,6	60,5±1,7	59,1±1,6

I risultati sono espressi come media (n=3) ±D.S.

10 Il glucosio a tutte le concentrazioni utilizzate causa un
incremento del volume di fluido intraperitoneale che si completa nelle
prime 2 hr. Infatti, a 4 e 6 hr il volume del liquido nel peritoneo rimane
costante.

Lo stesso esperimento è stato condotto utilizzando concentrazioni
scalari di carnitina. I risultati sono stati riportati in Tabella 3.

TABELLA 3.

Variazioni percentuali del volume di liquido recuperato in ratti sottoposti a dialisi peritoneale con 15 ml di soluzione contenente diverse concentrazioni di carnitina.

5

Soluzioni	Incremento % di volume (2 hr)	Incremento % di volume (4 hr)	Incremento % di volume (6 hr)
Carnitina 1,5%	25,8±1,3	22,5±1,6	25,3±1,4
Carnitina 2,5%	38,1±1,4	37,3±1,4	38,5±1,6
Carnitina 4,25%	61,5±1,5	64,1±1,8	62,3±1,9

I risultati sono espressi come media (n=3) ±D.S.

Anche la carnitina si rivela un buon agente osmotico almeno quanto il glucosio. La variazione percentuale d'incremento di liquido intraperitoneale è leggermente superiore a quella prodotta dal glucosio. Il fenomeno di richiamo di liquido da parte della soluzione contenente carnitina è anche in questo caso veloce e raggiunge il massimo d'attività all'interno delle 2 hr non producendo ulteriori incrementi di volume nei tempi successivi (4, 6 hr).

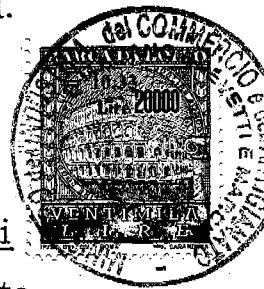
15 Confermata l'attività in vivo della carnitina come agente osmotico per la dialisi peritoneale abbiamo condotto una serie d'esperimenti utilizzando la carnitina in miscele con glucosio o amminoacidi (aa), mantenendo la % totale degli osmoliti pari a 1.5%. I risultati vengono riassunti nella tabella 4.

Nella tabella 5 viene invece riportata la composizione relativa alla miscela di amminoacidi utilizzata. La composizione della soluzione amminoacidica è quella ottimizzata per minimizzare l'acidosi metabolica che può instaurarsi quando si utilizzano tali soluzioni.

5

TABELLA 4.

Variazioni percentuali del volume di liquido recuperato in ratti sottoposti a dialisi peritoneale con 15 ml di soluzione contenente diverse miscele di carnitina, glucosio, ed amminoacidi (aa).



10

Soluzioni	Incremento % di volume (2 hr)	Incremento % di volume (4 hr)	Incremento % di volume (6 hr)
Carnitina 1,5%	25,8±1,3	22,5±1,6	25,3±1,4
Glucosio 1,5%	21,1±1,5	21,5±1,9	21,7±1,6
Car+Glu 1,0+0,5%	25,6±1,6	28,4±1,6	27,6±1,5
Car+aa 0,5+1,0%	24,6±1,2	26,4±1,3	25,3±1,2
Car+aa 0,8+0,7%	23,1±1,5	24,5±1,4	26,0±1,5
Car+aa 1,0+0,5%	25,9±1,5	28,4±1,5	33,8±1,4

I risultati sono espressi come media (n=3) ±D.S.

Per tutte le soluzioni saggiate il richiamo di liquidi nelle prime 2 hr è paragonabile e varia fra il 21,7 ed il 25,9%. Inoltre, tale
15 incremento rimane costante ai tempi di analisi successivi (4 e 6hr) per

tutte le soluzioni, tranne che per una tendenza all'incremento nel tempo, per la soluzione contenente Car+aa (1,0+0,5%).

TABELLA 5

5 Composizione della soluzione contenente aa

Amminoacidi	Concentrazione (mg %)
Leucina	74-112
Valina	100-151
Treonina	47-71
Isoleucina	61-92
Lisina. HCl	55-83
Istidina	52-78
Metionina	32-48
Fenilalanina	42-62
Triptofano	20-30
Alanina	68-103
Prolina	43-65
Arginina	60-113
Glicina	36-55
Serina	48-72
Tirosina	20-35
Aspartato	55-83
Glutammato	55-83
Fenilalanina/Tirosina	1,3-3,0
Acidi generanti/neutralizzanti	1-2,2
Essenziali/Totali	0,4-0,7

I seguenti esempi illustrano ulteriormente l'invenzione.

ESEMPIO 1

5 Soluzione per dialisi peritoneale

	Sodio	134,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
10	Cloruro	103,5	mmol/l
	Bicarbonato	34,0	mmol/l
	L-carnitina	1,5	%

ESEMPIO 2

15 Soluzione per dialisi peritoneale

	Sodio	134,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
20	Magnesio	0,5	mmol/l
	Cloruro	103,5	mmol/l
	Bicarbonato	34,0	mmol/l
	L-carnitina	2,5	%

ESEMPIO 3

25 Soluzione per dialisi peritoneale

	Sodio	134,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
30	Magnesio	0,5	mmol/l
	Cloruro	103,5	mmol/l
	Bicarbonato	34,0	mmol/l
	L-carnitina	4,25	%

ESEMPIO 4

Soluzione per dialisi peritoneale

5	Sodio	134,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
	Cloruro	103,5	mmol/l
	Lattato	35,0	mmol/l
10	L-carnitina	1,0	%
	Glucosio	0,5	%

ESEMPIO 5

Soluzione per dialisi peritoneale

15	Sodio	134,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
	Cloruro	103,5	mmol/l
20	Bicarbonato	34,0	mmol/l
	L-carnitina	1,0	%

Miscela di amminoacidi come da Tabella 5 0,5 %

ESEMPIO 6

25 Soluzione per dialisi peritoneale in doppia sacca

Sacca 1

	Sodio	193,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
30	Cloruro	103,5	mmol/l
	Lattato	35,0	mmol/l
	Glucosio	0,5-4,0	%

Sacca 2

	Bicarbonato	34,0	mmol/l
35	L-carnitina	4,0-0,5	%

ESEMPIO 7

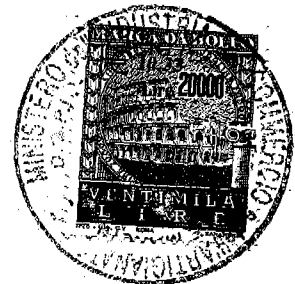
Soluzione per dialisi peritoneale

5	Sodio	134,0	mmol/l
	Potassio	2,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
	Cloruro	105,5	mmol/l
10	Bicarbonato	34,0	mmol/l
	L-carnitina	1,5-4,25	%

ESEMPIO 8

Soluzione per dialisi peritoneale

15	Sodio	134,0	mmol/l
	Potassio	2,0	mmol/l
	Calcio	1,75	mmol/l
	Magnesio	0,5	mmol/l
20	Cloruro	105,5	mmol/l
	Lattato	35,0	mmol/l
	L-carnitina	0,5-4,0	%
	Glucosio	4,0-0,5	%



RIVENDICAZIONI

1. Uso della L-carnitina e/o dei suoi alcanoil derivati, nei quali
l'alcanoile è un residuo alifatico, lineare o ramificato avente da
5 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di un sale
farmaceuticamente accettabile, come agente osmotico in
soluzioni per uso medico.
2. Uso secondo la rivendicazione 1, nel quale detto agente osmotico
è la L-carnitina.
- 10 3. Uso secondo la rivendicazione 1 nel quale detto agente osmotico
è la acetil L-carnitina.
4. Uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, dove detto
agente osmotico è una combinazione di L-carnitina e di almeno
un suo alcanoil derivato.
- 15 5. Uso secondo la rivendicazione 4, nel quale detto alcanoil derivato
è acetil L-carnitina.
6. Uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-3, o della
rivendicazione 4 o 5, nel quale almeno un altro agente osmotico
è in associazione nella soluzione per uso medico.
- 20 7. Uso secondo la rivendicazione 6, nel quale detto agente osmotico
è glucosio.
8. Uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, nel

quale detta soluzione per uso medico è utilizzata per la dialisi peritoneale.

9. Soluzione per uso medico caratterizzata dal fatto che l'agente osmolare è la L-carnitina, e/o uno o più alcanoil derivati di L-carnitina, nel quale l'alcanoile è un residuo alifatico, lineare o ramificato avente da 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di sale con un acido farmaceuticamente accettabile.
10. Soluzione per dialisi peritoneale caratterizzata dal fatto che l'agente osmolare è la L-carnitina, e/o uno o più alcanoil derivati di L-carnitina, nel quale l'alcanoile è un residuo alifatico, lineare o ramificato avente da 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di sale con un acido farmaceuticamente accettabile.
11. Soluzione secondo la rivendicazione 10, nella quale l'agente osmolare è L-carnitina in combinazione con almeno un suo alcanoil derivato, nel quale l'alcanoile è un residuo alifatico, lineare o ramificato avente da 2 a 8 atomi di carbonio, eventualmente sotto forma di un sale con un acido farmaceuticamente accettabile.
12. Soluzione secondo la rivendicazione 11, nella quale detto alcanoil derivato è acetil L-carnitina, eventualmente sotto forma di un sale con un acido farmaceuticamente accettabile.

13. Soluzione secondo una delle rivendicazioni 10-12, nella quale detto sale farmaceuticamente accettabile è scelto nel gruppo che consiste di fumarato, aspartato, citrato e maleato.
14. Soluzione secondo una delle rivendicazioni 10-13, sotto forma di concentrato.
15. Soluzione secondo una delle rivendicazioni 10-13, nella quale detto agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione di 1,5% p/v.
16. Soluzione secondo una delle rivendicazioni 10-14, nella quale detto agente osmotico è costituito da una combinazione di L-carnitina con un altro agente osmotico.
17. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione da circa 0,5 a circa 10% p/v.
18. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione da circa 0,7 a circa 7% p/v.
19. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione da circa 1 a circa 5% p/v.
20. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione di circa 1,5%

A
27

p/v.

21. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione di circa 2,5% p/v.
- 5 22. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è L-carnitina alla concentrazione di circa 4,25% p/v.
- 10 23. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è una combinazione di L-carnitina alla concentrazione di 1,0% p/v e di glucosio alla concentrazione di 0,5% p/v.
- 15 24. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è una combinazione di L-carnitina alla concentrazione di 0,5% p/v e di una miscela di amminoacidi alla concentrazione di 1,0% p/v.
25. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è una combinazione di L-carnitina alla concentrazione di 0,8% p/v e di una miscela di amminoacidi alla concentrazione di 0,7% p/v.
- 20 26. Soluzione per dialisi peritoneale, caratterizzata dal fatto che l'agente osmotico è una combinazione di L-carnitina alla concentrazione di 1,0% p/v e di una miscela di amminoacidi alla



concentrazione di 0,5% p/v.

27. Soluzione secondo una delle rivendicazioni 24-26, nella quale la miscela di amminoacidi ha la seguente composizione:

Amminoacidi	Concentrazione (mg %)
Leucina	74-112
Valina	100-151
Treonina	47-71
Isoleucina	61-92
Lisina. HCl	55-83
Istidina	52-78
Metionina	32-48
Fenilalanina	42-62
Triptofano	20-30
Alanina	68-103
Prolina	43-65
Arginina	60-113
Glicina	36-55
Serina	48-72
Tirosina	20-35
Aspartato	55-83
Glutammato	55-83
Fenilalanina/Tirosina	1,3-3,0
Acidi generanti/neutralizzanti	1-2,2
Essenziali/Totali	0,4-0,7

81
19

28. Soluzione per dialisi peritoneale, secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti che comprende palmitoil L-carnitina come tensioattivo.
29. Contenitore per dialisi peritoneale, comprendente una soluzione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti.

TITOLO

**“Uso della L-carnitina e dei suoi alcanoli derivati come agente
osmotico in soluzioni per uso medico”.**

5

RIASSUNTO

Si descrive l'uso della L-carnitina e dei suoi alcanoli derivati,
eventualmente sotto forma di un sale farmaceuticamente accettabile
come agenti osmotici nella preparazione di soluzioni per uso medico, in
10 particolare per dialisi peritoneale.

sigma-tau

Industrie farmaceutiche riunite s.p.a.
sede: 47, viale shakespeare - 00144 roma
tel. 06 592 64 43 - 06 592 66 00
stabilimento: via pontina km 30,400
00040 pomezia - 06 9139

capitale sociale 30 500 000 000 Inter. versato
cod. fiscale n. 00410650584
partita iva n. 00885531004
iscriz. registro imprese roma - trib. roma n. 1468/57
iscriz. sched. nazion. ric. cod. G0120YKG
c.c.i.a.a. roma n. 205785
telegr.: farmaceutici - 00144 roma
c.c. postale n. 00947002
sede: telefax 06 592 64 41
stabilimento: telefax 06 9139 39 80
c.p. 174 pomezia - roma

PCT/IT99 / 00317

HOME COPY
TRANSLATION RULE 12.3.

Pomezia, 8 novembre 1999

MINISTERO dell'INDUSTRIA, del
COMMERCIO e dell'ARTIGIANATO
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi - Div VII
Via Molise, 19
00187 ROMA

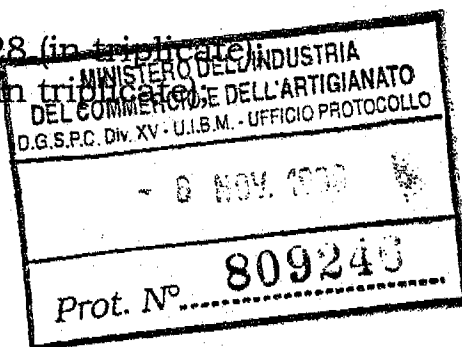


Re: (PCT/ST-34) International patent application
n° PCT/IT 99/00317 filed on 11.10.1999 in the name
of SIGMA-TAU Industrie Farmaceutiche Riunite S.p.A.

Dear Sirs,

Please find herewith enclosed the translation in English of the following items relating to the international patent application specified in object, pursuant to Rule 12.3:

- Description, from pag. 1 to pag. 28 (in triplicate)
- Claims, from pag. 29 to pag. 33 (in triplicate)
- Abstract, pag. 34 (in triplicate).



Very truly yours
SPADARO Marco

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

All.
MS/vb

"Use of L-carnitine and its alkanoyl derivatives as osmotic agents in solutions for medical use".

The invention described herein relates to the use of L-carnitine and its alkanoyl derivatives, optionally in the form of a pharmaceutically acceptable salt as osmotic agents in solutions for medical use, particularly in peritoneal dialysis.

Background of the invention

Patients suffering from end-stage renal disease (or ESRD) must either undergo dialysis therapy or be submitted to a kidney transplant. Both therapeutic interventions are extremely demanding, both from the point of view of the quality of life of the patient and in terms of social costs. For a review of dialytic therapy see, for example, Pastan S. and Bailey J. in the New England Journal of Medicine, 14 May 1998, pp. 1428-1436, incorporated herein for reference in its entirety.

Dialytic therapy comprises two types of treatment, namely peritoneal dialysis and haemodialysis. There are major differences between the two types of dialysis, such as, in the case of haemodialysis, the cost of the therapy, the need for dedicated departments with expensive equipment and qualified staff, and the quality of life of the patient. Peritoneal dialysis, on the other hand, enjoys greater favour on account of its simplicity of execution, which can be handled by the patient himself in the form of self-medication. In Italy, for example, 15% of dialysis patients use peritoneal dialysis, which is practically the same as in the USA (16%), while the percentages of patients on peritoneal dialysis are higher in Canada (38%) and the United Kingdom (52%), and get up to as much as 90% in Mexico. The reason for these different rates is also to be

attributed to the lower cost of peritoneal dialysis as compared to the cost of haemodialysis which not all national health systems are prepared to bear. We should, however, not overlook the fact that peritoneal dialysis allows the patient to maintain a less
5 constrained life-style, since the dialysis session can be planned with a certain measure of autonomy in the course of the person's normal activities. In addition, automatic devices also allow dialysis during the hours of the night.

Despite this, the choice between the two types of dialysis
10 is not a free one; for instance, peritoneal dialysis is indicated for patients with cardiac insufficiency or unstable angina who cannot support the alterations of blood flow and/or arterial blood pressure that accompany the haemodialysis session (see reference cited above).

15 One can postulate a therapeutic progression for the ESRD patient which starts with peritoneal dialysis, proceeds via haemodialysis and finally reaches a stage where a kidney transplant is needed.

Peritoneal dialysis is not without disadvantages and
20 unwanted adverse effects. These drawbacks can be placed in two distinct, even if related, categories, namely adverse clinical effects and technological problems. The purpose of the invention described herein is to remedy these disadvantages and adverse effects.

25 In the typical execution of a peritoneal dialysis session, a plastic catheter is implanted in the peritoneal cavity and anchored to the subcutaneous tissues. A dialysis solution contains physiological amounts of sodium, calcium, magnesium, compatible physiological buffer and a non-toxic
30 osmotic agent, of such a nature as to make the solution

86
84

hyperosmolar as compared to the plasma. The solution is infused via the catheter into the peritoneal cavity where it then remains for several hours. During this time, the peritoneal membrane exchanges solutes by diffusion in such a way as to obtain replacement with fresh fluid. Given that renal function decreases in the first few years of dialysis, the dose of dialysis fluid to be exchanged increases in the course of time.

Peritonitis is the serious complication that occurs most frequently. Other types of complications are losses of amino acids and albumin, incompatibility of the dialysis solution, volume effects in the peritoneal cavity, metabolic consequences, symptoms affecting the digestive tract, reduced appetite and others (for a review see C.M. Mion, R. and Gokal and N.P. Mallick, Lancet, 1999; 353; 823-28).

One of the most pressing problems in the peritoneal dialysis sector is the choice of a suitable osmotic agent.

The requisites of an ideal solution for peritoneal dialysis include:

- supplying the nutritional requirement and avoiding adverse metabolic effects;
- ensuring minimal absorption of the osmotic agent, which, in any case, must be non-toxic;
- being capable of correcting acidosis and having a physiological pH;
- in addition to considerations with technological implications, such as apyrogenicity, absence of metals and residues of synthetic materials, the solution must also inhibit bacterial and fungal growth, must not damage the immune defences and must be inert in relation to the peritoneal membrane.

A typical solution for peritoneal dialysis contains glucose in various concentrations as an osmotic agent, and various amounts of lactate (which has replaced acetate owing to problems of intolerance on the part of the patient), sodium, potassium and calcium. Buffer systems have also been studied in an attempt to solve the problem of sterilization and stabilization of the solution.

As regards the sterilization aspect, this is a critical technological problem; in fact, heat sterilization, commonly used in the sector of solutions for medical use, causes degradation of glucose, with consequent production of toxic secondary derivatives, such as aldehydes and 5-hydroxy-methylfurfural. Traditionally heat sterilization of the solution containing glucose (also indicated as dextrose) is done at a pH between 5.0 and 5.5, precisely in order to avoid caramelization of the glucose. The acid pH leads to further problems for the patient using the solution, such as, for example, abdominal pain and sclerosis of the peritoneal membrane, which entails a reduction of the elimination of solutes (Schmidt et al., Arch. Int. Med., 141; 1265-1266, 1981).

The purpose of the invention described herein is also to provide a solution to the complex problems related to the use of glucose as an osmotic agent in solutions for peritoneal dialysis.

Glucose is extensively used owing to its great availability on the market and its low cost. It is a relatively safe substance, but its use at high concentrations and its prompt absorption lead to short ultrafiltration times, and metabolic complications, such as hyperinsulinaemia, hyperlipidaemia, and weight gain. In addition, hyperosmolarity and low pH can damage the mesothelium and macrophages. Moreover, the potential



glycosylation of stromal proteins leads to further damage to the peritoneum. Also reported is the inhibition of phagocytosis, bactericidal activity and the synthesis of LTB₄ in peripheral blood neutrophils. In continuous ambulatorial peritoneal dialysis (CAPD), where the application time can be as much as 6 hours or more, the glucose concentrations are very high to be able to maintain the ultrafiltration capacity. For a review of the biocompatibility of solutions for peritoneal dialysis see C.J. Holmes in Peritoneal Dialysis International, Vol. 13, pp. 88-94, 1993.

To overcome the problems created by the use of glucose as an osmotic agent in peritoneal dialysis, the state of the art directs experts in the field towards two distinct types of solution:

- 1) the use of low-molecular-weight osmotic agents, capable of sustaining ultrafiltration with minimal metabolic effects, without, however, altering the ultrafiltration profile;
- 2) the use of high-molecular-weight osmotic agents in an attempt to act on both factors.

Of the various low-molecular-weight agents proposed, to date only glycerol and mixtures of amino acids would appear to be of a certain clinical interest. In Italy, for example, a 1.1% multi-amino-acid solution is being marketed by Baxter under the trade mark Nutrineal® PD2 and PD4.

These proposed alternatives to glucose are not problem-free; other saccharides have metabolic effects: for example, fructose gives rise to hypertriglyceridaemia and hyperosmolarity, sorbitol hyperosmolarity and accumulation, xylitol lactic acidosis and hyperosmolarity; glycerol is well tolerated, but its ultrafiltration capacity is short-lasting and it also causes hyperosmolarity,

while an adverse effect on phagocytes has also been reported (de Fijter CWH et al., Advances in Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis, Toronto, Peritoneal Dialysis Publication, 1991, 154-7). Amino acids, though useful in undernourished patients, give rise to acidosis and to an increase in the nitrogen load, which is contraindicated in an uraemic patient. On the other hand, high-molecular-weight osmotic agents present a whole series of disadvantages of their own, such as possible immunogenicity in the case of peptides, absorption, intraperitoneal bleeding (demonstrated in rats) and ultrafiltration in the case of dextrans (MW 60-200 kDa), cardiovascular instability, peritoneal damage and haemorrhage in the case of polyanions and cations (MW 40-90 kDa), prolonged half-life, immunogenicity, allergenicity and high viscosity of the solution in the case of gelatines (MW 20-390 kDa) and maltose retention in the case of glucose polymers.

Unfortunately, the adverse effects of solutions for peritoneal dialysis do not stem only from the osmotic agent chosen, but also from other components of the solutions. Lactate, for example, when combined with the low pH of the solution, which is necessary in order to be able to perform sterilization, suppresses various functional activities of the peripheral and peritoneal leukocytes and inhibits the production of IL-6 and TNF α by mononuclear cells.

In his review of osmotic agents, Gokal concluded in 1990 that at that time there was no osmotic agent capable of replacing glucose (Coles GA, Davies M, Williams JD (eds): CAPD: Host Defence, Nutrition and Ultrafiltration. Contrib. Nephrol., Basel, Karger, 1990, vol. 85, pp. 126-133).

An enormous effort is being made to find an alternative osmotic agent to glucose, meeting or at least coming close to meeting the requisites of the "ideal" solution. Among the numerous patent references, we should cite patent JP 11071286, filed in the name of the Terumo Corp., which describes a solution where the osmotic agent consists in a mixture of glucose and maltose in molar ratios of 1:0.05-5 and with an osmotic pressure of 280-600 mOsm/kg at pH 6.0-7.5, with enhanced water removal characteristics and reduced glucose absorption. For obese, diabetic patients, the same company supplies a complex osmotic agent, made up of N-acetylamine acid (L-amino acid), N-acetyl-D-glucosamine, glucuronic and/or ascorbic acid (patent JP 11071273). Mixtures of saccharides with hexavalent alicyclic alcohols, hexonic acid and sacchric acid are described in patent JP 11049671, filed in the name of Baxter Int. Inc. Patent application WO 9901144, filed by Allied Therapeutics Ltd., describes synthetic hydrogenated di- and trisaccharides. Patent MX 9601855, filed by Trevino, uses dextran 60. Baxter again, in patent JP 10094598, proposed non-reducing oligosaccharides or polysaccharides containing from 3 to 12 residues. In patent application WO 9801141, filed by Bieffe Medital SpA, the use of glycosaminoglycans, devoid of anticoagulant or haemorrhagic activity, is described. US patents US 5629025, US 5589197 and US 5631025, filed in the name of Baxter International Inc., describe solutions for peritoneal dialysis with a low sodium content, for which substances containing at least one amino acid or polypeptide, or a polyglucose, are envisaged as osmotic agents. The University of Missouri supplies chemically crosslinked gelatine as an osmotic agent to partially or wholly

21
09

replace glucose (US 4604379). Starch hydrolysates are described in US 5837060, filed in the name of Roquette Freres. Patent JP 7323084, filed by Morishita Roussel KK and Ajinomoto Co. Inc., describes the use of trehalose to prepare neutral solutions to replace glucose. See also US patent US 4761237.

Examining in greater detail the low-molecular-weight osmotic agents to which the present invention refers, the state of the art provides teachings directed to the use of amino acids or short peptides, which are advantageous from the point of view of the nutritional support of undernourished patients. Baxter International Inc., under its US patent US 5776503, supplies a mixture of amino acids, which is highly complex but, despite its very high cost, has yet to be surpassed by the many alternatives proposed. US patent US 5780438, filed in the name of Giltech Limited, describes a stable solution, where the osmotic agent consists of a mixture of peptides obtained from the proteolysis of casein or whey proteins. US patent US 5869444, filed in the name of Research Corporation Technologies, extensively discusses the alternatives to glucose and directs the experts in the field towards low-molecular-weight osmotic agents of an amino-acid nature. However, though admitting the nutritional benefit, mentioned earlier, the inventors stress the disadvantage of the high cost, and the increased nitrogen load in the blood. Thus, in the cited patent, they propose the use of oligopeptides (300-2000 Da) derived from the enzymatic hydrolysis of high-quality proteins, such as whey, which are advantageous both from the functional point of view of the dialysis and from the nutritional point of view. In this patent, however, the need is perceived for a very thorough



92
9P

and carefully controlled hydrolysis and separation process in order to avoid the risk of high-molecular-weight components, potential antigens or allergens. Among the protein sources, those mentioned include collagen, the use of which today is, however, questionable owing to problems of prion contamination (BSE, scrapie), milk proteins, but not casein, and others. In the course of the description, the inventors admit a series of difficulties in assuring the quality of the hydrolysis process.

In relation to other aspects of peritoneal dialysis, DE 19748290, WO 991762, JP 10330270, WO 9852599, WO 9850060, CA 2219822, WO 9917762 and US 5827820 are cited.

All documents cited are incorporated herein for reference in their entirety.

Abstract of the invention

It has surprisingly been found that L-carnitine, or, alternatively, one of its lower alkanoyl derivatives, or L-carnitine in combination with its lower alkanoyl derivatives, is useful as an osmotic agent in the preparation of solutions for peritoneal dialysis, and in general as an osmotic agent for solutions for medical use.

One subject of the invention described herein is the use of L-carnitine and its lower alkanoyl derivatives, where what is meant by lower alkanoyl derivative is a straight or branched aliphatic acyclic residue with from 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a pharmaceutically acceptable salt, as an osmotic agent in solutions for medical use, particularly for the preparation of solutions for peritoneal dialysis. Another subject of the present invention consists in solutions for medical use characterised in that the osmotic agent is L-carnitine or one of its alkanoyl derivatives, as defined above, optionally in

./.

93
al

combination with one another or with one or more known osmotic agents.

L-carnitine and its lower alkanoyl derivatives are known to have various therapeutic uses. In particular, US patent US 4327167, filed in the name of the applicant, describes the use of alkanoyl carnitines, as defined above, in a therapeutic method for the treatment of chronic uraemic patients undergoing regular dialysis. Also described are polysaline solutions for haemodialysis containing an alkanoyl carnitine. Patent EP 0793962, filed in the name of the applicant, describes the use of propionyl L-carnitine for the preparation of a medicine useful for the selective treatment of chronic obliterating atherosclerosis (claudicatio intermittens). Patent IT 1155772, filed in the name of the applicant, describes the use of alkanoyl L-carnitine in the therapy of myocardial anoxia, ischaemia, arrhythmia syndromes and heart failure. Patent US 4255449, filed in the name of the applicant, describes the use of L-carnitine in the treatment of dyslipidaemias. Patent application WO 9906039, filed in the name of the applicant, describes the use L-carnitine and its alkanoyl derivatives in combination with polycosanols for the treatment of dyslipidaemias. There are numerous descriptions of combinations of L-carnitine and alkanoyl derivatives with other active ingredients, e.g. gamma-linoleic acid (see WO 9841113) for the treatment and prevention of the side effects of diabetes mellitus, particularly peripheral neuropathy.

US patent US 4272549 teaches the use of particular administration regimens of L-carnitine combined orally and intravenously to combat post-dialysis syndrome in uraemic patients undergoing regular haemodialysis treatment.

US patent US 4237167 teaches the use of particular administration regimens of acyl L-carnitine combined orally and intravenously to combat post-dialysis syndrome in uraemic patients undergoing regular haemodialysis treatment.

5 Patent application WO 9907419, filed in the name of Gupta, describes compositions for dialysis containing an effective amount of at least one vitamin selected from the group consisting of folic acid, vitamin B₆, thiamine, vitamin B₁₂, and optionally vitamin C and/or carnitine. The purpose of these
10 preparations is to compensate for the loss of vitamins to which patients on either haemodialysis or peritoneal dialysis are subject. The effective amounts are indicated in the description. In the case of free L-carnitine, an amount less than 50 $\mu\text{mol/l}$ is specified for the dialysed patient during each dialysis session for
15 the prevention of vitamin and carnitine deficiencies. The preferred concentrations range from 50 to 300 $\mu\text{mol/l}$. Thus, the amount of L-carnitine present in the solutions described by Gupta is less than the amount necessary for L-carnitine to act as an osmotic agent.

20 The advantages of using L-carnitine or one of its alkanoyl derivatives, as defined above, are multiple. The replacement of glucose by L-carnitine or one of its alkanoyl derivatives eliminates the adverse effects described above. Furthermore, the carnitines (meaning L-carnitine or its alkanoyl derivatives as
25 defined in the invention described herein) are compatible with the bicarbonate buffer, and therefore obviate the disadvantage of having to use solutions at below physiological pH, such as the pH 5.0 or 5.5 typical of glucose solutions.

The use of carnitines, particularly L-carnitine, acetyl L-carnitine and propionyl L-carnitine, is additionally advantage-
30

ous compared to other known osmotic agents because the carnitines are non-toxic, well tolerated substances with no adverse effects at the doses described below. Unlike the amino acids, the carnitines play no part in protein metabolism and thus do not aggravate the nitrogen load of the uraemic patient. As regards the difference from high-molecular-weight osmotic agents, the advantage is immediate: the carnitines are natural substances present in living organisms, particularly mammals, including man. For this reason, the risk of introducing xenobiotic substances into the body is eliminated.

Moreover, the use of carnitines as osmotic agents provides the dialysed patient with the amount of L-carnitine necessary to compensate for the carnitine losses which occur during the dialysis session. For data on carnitine levels in patients undergoing CAPD, see Kidney Int. 1996 Jan; 49(1): 158-62 and Perit. Dial. Int. 1993; 13 Suppl 2.

A further advantage of the application of the invention described herein is that carnitine, when used as an osmotic agent, not only compensates for the carnitine losses, but is also capable of exerting its own therapeutic effects in a series of diseases related to renal insufficiency, such as, for example, the diseases described in the above-mentioned patents.

The invention will now be described in detail also with the aid of examples. Further subjects of the invention described herein, with their respective advantages, will be apparent to experts in the field to which the present invention pertains.

Detailed description of the invention

What is meant by lower alkanoyl is an acyl group with from 2 to 8 carbon atoms, preferably from 2 to 6, such as acetyl, propionyl, butyryl, isobutyryl, valeryl, isovaleryl, 2-methyl-



26
94

butyryl, 2,2-dimethylpropionyl, hexanoyl, heptanoyl, octanoyl and all their possible isomers.

The invention described herein envisages the use of carnitines as inner salt. If deemed suitable, one of their pharmaceutically acceptable salts can be used. What is meant by pharmaceutically acceptable salt of L-carnitine or of an alkanoyl L-carnitine derivative is any salt of the latter with an acid which does not give rise to unwanted toxic or side effects. These acids are well known to pharmacologists and to experts in pharmaceutical technology.

Examples of pharmaceutically acceptable salts of L-carnitine or alkanoyl L-carnitines, though not exclusively these, are chloride, bromide, orotate, acid aspartate, acid citrate, acid phosphate, fumarate and acid fumarate, maleate and acid maleate, acid oxalate, acid sulphate, glucose phosphate, tartrate and acid tartrate. The preferred salts are those with fumarate, aspartate, citrate and maleate.

Also the subject of the invention described herein are solutions for peritoneal dialysis, both in the form of ready-to-use solutions and in the form of concentrates to be diluted at the time of use, containing an osmotic agent according to the present invention.

The dosages, posology and treatment regimen in general will be determined by the primary care physician according to his knowledge of the case, the patient's condition and the extent of the disease to be treated.

In a first preferred realization, in the invention described herein L-carnitine, inner salt, is used.

In a second preferred realization, carnitine is present in the form of a salt with fumaric acid. Though not wishing to be

./.

97
95

bound by any theory, the applicant believes that the fumarate salt may be particularly advantageous for supplying the energy requirement of the dialyzed patient. Fumarate, in fact, is an energy substrate which is useful in the treatment of organ ischaemia. The applicant has demonstrated the efficacy of L-carnitine fumarate in the treatment of organ ischaemia, particularly ischaemic heart disease, as described in patent application 99RM0003328, incorporated herein for reference in its entirety.

10 In a third realization of the invention described herein, a combination of L-carnitine and acetyl L-carnitine is used. This combination is additionally advantageous to provide the patient with an acetyl L-carnitine supplement.

In the description of the possible realizations of the invention, what is meant by carnitine is L-carnitine, as inner salt, or a salt with a pharmaceutically acceptable acid, as described above, alone or in combination with one of its alkanoyl derivatives as inner salt, or as a salt with a pharmaceutically acceptable acid, or one of its alkanoyl derivatives, as inner salt or a salt with a pharmaceutically acceptable acid.

20 In a first aspect of the present invention, carnitine is used as an osmotic agent as a total substitute for glucose.

The carnitine concentrations are those sufficient for it to act as an osmotic agent and concentrations up to a physiologically tolerable maximum are envisaged. It is understood that the carnitine concentration will be such as to ensure a satisfactory effect for the uses envisaged for the present invention. In particular, it is considered satisfactory the

./.

obtained which can be considered a therapeutic effect in the context of peritoneal dialysis.

Where not otherwise specified, the concentrations are understood to be weight/volume (w/v).

5 Examples of concentrations are approximately 0.5 to approximately 10%, preferably approximately 0.7 to approximately 7%, and more preferably from approximately 1 to 5%. In a typical realization of the present invention, the carnitine concentrations are those normally used for glucose in commercial preparations, namely from 1.5 to 4.25%.

10 It is understood that experts in the field will be capable of determining effective concentrations according to the type of solution used. Examples are concentrations starting from approximately 0.5%.

15 If so required, alternatively, carnitine can be used as a partial substitute for glucose. The respective carnitine and glucose concentrations can be freely varied, provided that a satisfactory effect is obtained in terms of the uses envisaged for the present invention. Examples of combinations with glucose
20 are 4.0% glucose - 0.25% carnitine; 1.0% glucose - 0.5% carnitine; 0.5% glucose - 1.0% carnitine; 0.25% glucose - 4.0% carnitine. The 0.5% glucose - 1.0% carnitine combination is preferred.

25 Other possible realizations of the invention consist in a combination of carnitine as an osmotic agent with other known osmotic agents; for example, preferred combinations are those with amino acids, such as the formulations already present on the market, or with the dipeptides and/or polypeptides of the above-mentioned patents. One particularly advantageous
30 realization is the use of carnitine in the twin bags described in

patent DE 19748290, which uses bicarbonate buffer. It is also useful to increase the dose of carnitine, particularly L-carnitine, in the solutions described in WO 9907419 up to a concentration which is effective as an osmotic agent.

5 In another possible realization, the osmotic agent according to the present invention is used in combination with the osmotic agents described in US patent US 5827820, filed in the name of Baxter International Inc.

10 The use of the osmotic agent according to the present invention is also envisaged in combination with high-molecular-weight osmotic agents, such as, for instance, those described in the above-cited references, and particularly with icodextrin.

15 In a particular realization of the present invention, a surfactant normally used in this field is added to the peritoneal dialysis solution. Specific mention is made of palmitoyl L-carnitine.

20 One specific subject of the present invention consists in solutions for medical use characterized in that the osmotic agent is L-carnitine and/or its alkanoyl derivatives, in which the alkanoyl is a straight or branched aliphatic residue with from 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a pharmaceutically acceptable salt. A particular subject of the present invention consists in solutions for peritoneal dialysis.

25 As regards those aspects pertaining to industrial applicability, the solutions which are the subjects of the present invention will be contained in suitable containers for peritoneal dialysis, generally bags made of suitable material compatible with medical use. Containers for peritoneal dialysis are known to experts in the field and do not require any particular
30 description, the reader being referred to the specific literature



and to the general knowledge of the technical field to which the invention pertains. Examples are bags with a single chamber or multiple chambers, e.g. a double chamber, or separate bags containing different solutions to be mixed at the time of use by means of automatic equipment. Containers for peritoneal dialysis containing a solution according to the present invention are covered by the protection afforded by the present patent application.

The invention described herein is now described with the aid of experimental tests permitting the implementation of the the realization preferred. It is fully understood that equivalent realizations coming within the framework of the present invention can be implemented by the person having ordinary skill in the field, availing himself only of his own general knowledge, even by the trial and error method, without any need for further description on the part of the present invention.

***In-vitro* transport studies**

Fluid transport *in vitro* was performed using tubes consisting of semipermeable cellulose membranes containing the various different dialysis solutions.

Buffer solutions were added with scalar concentrations of carnitine (0.5, 1.0 and 1.5%) in bicarbonate buffer (30 mM) and NaCl (100 mM) at pH 7.2. A 1.5% glucose solution was used as a reference.

The composition of the buffer solution is as follows: sodium 134 mmol/l, calcium 1.75 mmol/l, magnesium 0.5 mmol/l. The solutions containing glucose were buffered at pH 5.5 with 35 mmol/l of L-lactate. The solutions containing carnitine were buffered as for glucose at pH 7.0-7.6 with 34 mmol/l of bicarbonate. Ten ml of the various dialysis solutions

were placed in the tubes and the tubes were suspended in a 1-litre graduated cylinder filled with a 0.9% NaCl solution. The saline bath was recycled at a rate of 500 ml/min with direct flow along the main axis of the dialysis tube using an infusion pump.

- 5 The amount of fluid recovered inside the tube was determined gravimetrically after removing the fluid adhering to the walls of the membrane with a sheet of absorbent paper. The tube was then put back inside the cylinder and submitted to successive weight measurements at 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300
10 and 360 minutes.

Table 1 gives the increase in weight of the fluid recovered from the dialysis solution in the course of time.

TABLE 1.

- 15 Fluid transport induced by 10 ml of fluid containing different concentrations of carnitine or glucose.

Times (min)	Carnitine 0.5% (g fluid)	Carnitine 1.0% (g fluid)	Carnitine 1.5% (g fluid)	Glucose 1.5% (g fluid)
15	0.02±0.01	0.07±0.02	0.10±0.01	0.09±0.02
30	0.06±0.01	0.13±0.02	0.26±0.03	0.19±0.03
45	0.10±0.03	0.20±0.03	0.30±0.02	0.27±0.02
60	0.12±0.02	0.22±0.03	0.35±0.04	0.31±0.04
90	0.17±0.03	0.33±0.03	0.48±0.04	0.41±0.04
120	0.19±0.02	0.36±0.03	0.54±0.04	0.47±0.04
180	0.21±0.03	0.42±0.04	0.66±0.04	0.54±0.04
240	0.27±0.02	0.49±0.03	0.77±0.05	0.59±0.04
300	0.29±0.02	0.51±0.03	0.77±0.04	0.63±0.05
360	0.27±0.03	0.48±0.04	0.74±0.05	0.62±0.04

102
p2

The values are means ($n=3$) $\pm$ S.D. of 3 different experiments.

The weight of the dialysis tube increases progressively over time as a function of the different carnitine concentrations. The plateau is reached for all concentrations assayed at 240 minutes. The trend of the samples containing 1.5% glucose is comparable to that of the samples containing 1.5% carnitine.

***In-vivo* experiments**

The peritoneal dialysis experiment was conducted in male Sprague-Dawley rats weighing 500-600 g (Charles River) maintained on a standard diet with water *ad libitum*. The animals were anaesthetized with an intraperitoneal injection of inactin (100 mg/kg) and were placed on an operating table at controlled temperature. The animals were submitted to a tracheostomy to cannulate the left jugular vein with a PE50 medical silicone tube. Thirty minutes after administration of the anaesthetic the animals were infused with a saline solution at a rate of 2.3 ml/h throughout the period of the experiment. The dialysis solution (15 ml), after preheating to 37°C, was inoculated into the peritoneal cavity with a 15 teflon needle-cannula 1 h after administration of the anaesthetic. The amount of fluid injected was determined by weighing the syringe before and after injection of the fluid, using an electronic scale. At the end of each analysis period (2, 4 and 6 h), incisions were made in the rats' abdomens with an acusector and all the fluid present in

103
101

the peritoneum was aspirated with a 1 ml syringe. After removing the surface fluid, the intestines were carefully shifted from the abdominal cavity to collect the residual fluid remaining on the dorsal wall. The fluid recovered was placed in a beaker and weighed. The change in weight compared to time 0 represented the amount of fluid recovered from the peritoneal solution injected.

A series of *in-vivo* experiments was conducted according to the experimental model described above in order to evaluate the transport ability of various dialysis fluids containing carnitine.

The data relating to initial and final weight of the fluid recovered from the peritoneum of the animals at the different analysis times were used to calculate the percentage increase in volume in each animal.

Table 2 gives the data for an experiment in which glucose was used at different concentrations (1.5, 2.5 and 4.25%) as the dialysis fluid. These hyperosmolar solutions constitute our control data since they are those commonly used in clinical practice.



TABLE 2.

Percentage changes in fluid volume recovered from rats submitted to
peritoneal dialysis with 15 ml of solution containing different
concentrations of glucose.

Solutions	% increase in volume (2 h)	% increase in volume (4 h)	% increase in volume (6 h)
Glucose 1.5%	21.1±1.5	21.5±1.9	21.7±1.6
Glucose 2.5%	35.2±1.4	35.9±1.3	36.8±1.5
Glucose 4.25%	59.8±1.6	60.5±1.7	59.1±1.6

Results are expressed as mean (n=3) ± S.D.

Glucose at all concentrations used causes an increase in intraperitoneal fluid volume which is completed in the first 2 h. In fact, at 4 and 6 h the fluid volume in the peritoneum remains constant.

The same experiment was conducted using scalar concentrations of carnitine. The results are given in Table 3.

105
103**TABLE 3.**

Percentage changes in fluid volume recovered from rats submitted to peritoneal dialysis with 15 ml of solution containing different concentrations of carnitine.

5

Solutions	% increase in volume (2 h)	% increase in volume (4 h)	% increase in volume (6 h)
Carnitine 1.5%	25.8±1.3	22.5±1.6	25.3±1.4
Carnitine 2.5%	38.1±1.4	37.3±1.4	38.5±1.6
Carnitine 4.25%	61.5±1.5	64.1±1.8	62.3±1.9

Results are expressed as mean (n=3) ± S.D.

Carnitine, too, proves to be a good osmotic agent, at least as good as glucose. The percentage increase in intraperitoneal fluid volume is slightly greater than that produced by glucose. The fluid recovery by the solution containing carnitine is also rapid in this case and reaches peak activity within 2 h, producing no further increases in volume at the later observation times (4, 6 h).

After confirming the activity of carnitine as an osmotic agent for peritoneal dialysis *in vivo*, we conducted a series of experiments using carnitine in mixtures with glucose or amino acids (aa), maintaining the total percentage of osmolites equal to 1.5%. The results are summarized in Table 4.

./.

106
104

Table 5, on the other hand, gives the composition of the amino acids used. The composition of the amino acid solution is the optimal composition to minimize the metabolic acidosis that may occur when such solutions are used.

107
105**TABLE 4.**

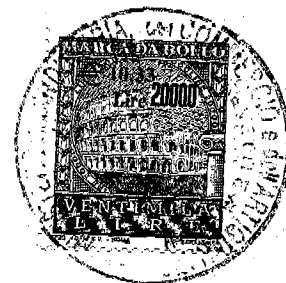
Percentage changes in fluid volume recovered from rats submitted to peritoneal dialysis with 15 ml of solution containing different mixtures of carnitine, glucose and amino acids (aa).

5

Solutions	% increase in volume (2 h)	% increase in volume (4 h)	% increase in volume (6 h)
Carnitine 1.5%	25.8±1.3	22.5±1.6	25.3±1.4
Glucose 1.5%	21.1±1.5	21.5±1.9	21.7±1.6
Car+Glu 1.0+0.5%	25.6±1.6	28.4±1.6	27.6±1.5
Car+aa 0.5+1.0%	24.6±1.2	26.4±1.3	25.3±1.2
Car+aa 0.8+0.7%	23.1±1.5	24.5±1.4	26.0±1.5
Car+aa 1.0+0.5%	25.9±1.5	28.4±1.5	33.8±1.4

Results are expressed as mean (n=3) ± S.D.

The fluid recovery in the first 2 h is comparable for all solutions assayed and ranges from 21.7 to 25.9%. Moreover, this increase remains constant at the later observation times (4 and 6 h) for all solutions, except for a tendency to increase over time in the case of the solution containing Car+aa (1.0+0.5%).



./.

TABLE 5

Composition of solution containing aa

Amino acids	Concentration (mg %)
Leucine	74-112
Valine	100-151
Threonine	47-71
Isoleucine	61-92
Lysine HCl	55-83
Histidine	52-78
Methionine	32-48
Phenylalanine	42-62
Tryptophan	20-30
Alanine	68-103
Proline	43-65
Arginine	60-113
Glycine	36-55
Serine	48-72
Tyrosine	20-35
Aspartate	55-83
Glutamate	55-83
Phenylalanine/Tyrosine	1.3-3.0
Generating/neutralizing acids	1-2.2
Essential/Total	0.4-0.7

5

The following examples further illustrate the invention.

199
108

EXAMPLE 1

Solution for peritoneal dialysis

5	Sodium	134.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	103.5	mmol/l
	Bicarbonate	34.0	mmol/l
10	L-carnitine	1.5	%

EXAMPLE 2

Solution for peritoneal dialysis

15	Sodium	134.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	103.5	mmol/l
20	Bicarbonate	34.0	mmol/l
	L-carnitine	2.5	%

EXAMPLE 3

Solution for peritoneal dialysis

25	Sodium	134.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	103.5	mmol/l
30	Bicarbonate	34.0	mmol/l
	L-carnitine	4.25	%

EXAMPLE 4

Solution for peritoneal dialysis

5	Sodium	134.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	103.5	mmol/l
	Lactate	35.0	mmol/l
10	L-carnitine	1.0	%
	Glucose	0.5	%

EXAMPLE 5

Solution for peritoneal dialysis

15	Sodium	134.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	103.5	mmol/l
20	Bicarbonate	34.0	mmol/l
	L-carnitine	1.0	%

Mixture of amino acids as in Table 5 0.5 %

EXAMPLE 6

Solution for twin-bag peritoneal analysis

Bag 1

	Sodium	193.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
30	Chloride	103.5	mmol/l
	Lactate	35.0	mmol/l
	Glucose	0.5-4.0	%

Bag 2

	Bicarbonate	34.0	mmol/l
35	L-carnitine	4.0-0.5	%

EXAMPLE 7

Solution for peritoneal dialysis

5	Sodium	134.0	mmol/l
	Potassium	2.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
	Chloride	105.5	mmol/l
10	Bicarbonate	34.0	mmol/l
	L-carnitine	1.5-4.25	%

EXAMPLE 8

Solution for peritoneal dialysis

15	Sodium	134.0	mmol/l
	Potassium	2.0	mmol/l
	Calcium	1.75	mmol/l
	Magnesium	0.5	mmol/l
20	Chloride	105.5	mmol/l
	Lactate	35.0	mmol/l
	L-carnitine	0.5-4.0	%
	Glucose	4.0-0.5	%



CLAIMS

1. Use of L-carnitine and/or its alkanoyl derivatives, in which the alkanoyl is a straight or branched aliphatic group, with 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a pharmaceutically acceptable salt, as an osmotic agent in solutions for medical use.
2. Use according to claim 1, in which said osmotic agent is L-carnitine.
3. Use according to claim 1, in which said osmotic agent is acetyl L-carnitine.
4. Use according to any of claims 1-3, where said osmotic agent is a combination of L-carnitine and at least one of its alkanoyl derivatives.
5. Use according to claim 4, in which said alkanoyl derivative is acetyl L-carnitine.
6. Use according to any of claims 1-3, or either of claims 4 or 5, in which at least one other osmotic agent is combined in the solution for medical use.
7. Use according to claim 6, in which said osmotic agent is glucose.
8. Use according to any of the foregoing claims, in which said solution for medical use is used for peritoneal dialysis.

113
111

9. Solution for medical use characterized in that the osmotic agent is L-carnitine, and/or one or more alkanoyl derivatives of L-carnitine, in which the alkanoyl is a straight or branched aliphatic group with 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a salt with a pharmaceutically acceptable acid.
10. Solution for peritoneal dialysis characterized in that the osmotic agent is L-carnitine, and/or one or more alkanoyl derivatives of L-carnitine, in which the alkanoyl is a straight or branched aliphatic group with 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a salt with a pharmaceutically acceptable acid.
11. Solution according to claim 10, in which the osmotic agent is L-carnitine in combination with at least one of its alkanoyl derivatives, in which the alkanoyl is a straight or branched aliphatic group with 2 to 8 carbon atoms, optionally in the form of a salt with a pharmaceutically acceptable acid.
12. Solution according to claim 11, in which said alkanoyl derivative is acetyl L-carnitine, optionally in the form of a salt with a pharmaceutically acceptable acid.
13. Solution according to any of claims 10-12, in which said pharmaceutically acceptable salt is selected from the group consisting of fumarate, aspartate, citrate and maleate,
14. Solution according to any of claims 10-13 in the form of a

114
112

concentrate.

15. Solution according to any of claims 10-13, in which said osmotic agent is L-carnitine at 1.5% concentration w/v.

16. Solution according to any of claims 10-14, in which said osmotic agent consists of a combination of L-carnitine and another osmotic agent.

17. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is L-carnitine at concentrations ranging from approximately 0.5 to approximately 10% w/v.

18. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is L-carnitine at concentrations ranging from approximately 0.7 to approximately 7% w/v.

19. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is L-carnitine at concentrations ranging from approximately 1 to approximately 5% w/v.

20. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is L-carnitine at a concentration of approximately 1.5% w/v.

21. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is L-carnitine at a concentration of approximately 2.5% w/v.

22. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the

113

osmotic agent is L-carnitine at a concentration of approximately 4.25% w/v.

23. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is a combination of L-carnitine at a concentration of 1.0% w/v and glucose at a concentration of 0.5% w/v.

24. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is a combination of L-carnitine at a concentration of 0.5% w/v and a mixture of amino acids at a concentration of 1.0% w/v.

25. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is a combination of L-carnitine at a concentration of 0.8% w/v and a mixture of amino acids at a concentration of 0.7% w/v.

26. Solution for peritoneal dialysis, characterized in that the osmotic agent is a combination of L-carnitine at a concentration of 1.0% w/v and a mixture of amino acids at a concentration of 0.5% w/v.

27. Solution according to any of claims 24-26, in which the mixture of amino acids has the following composition:



./.

116
114

Amino acids	Concentration (mg %)
Leucine	74-112
Valine	100-151
Threonine	47-71
Isoleucine	61-92
Lysine HCl	55-83
Histidine	52-78
Methionine	32-48
Phenylalanine	42-62
Tryptophan	20-30
Alanine	68-103
Proline	43-65
Arginine	60-113
Glycine	36-55
Serine	48-72
Tyrosine	20-35
Aspartate	55-83
Glutamate	55-83
Phenylalanine/Tyrosine	1.3-3.0
Generating/neutralizing acid	1-2.2
Essential/Total	0.4-0.7

28. Solution for peritoneal dialysis according to any of the foregoing claims, containing palmitoyl L-carnitine as a surfactant.

29. Container for peritoneal dialysis, containing a solution

5 according to any of the foregoing claims.

./.

TITLE

**"Use of L-carnitine and its alkanoyl derivatives as osmotic
agents in solutions for medical use ".**

5

SUMMARY

The use of L-carnitine and its alkanoyl derivatives, optionally
in the form of a pharmaceutically acceptable salt, as osmotic agents
in the preparation of solutions for medical use, particularly for
10 peritoneal dialysis, is described.

109
117

(ESCUDO)

MINISTERIO DE INDUSTRIA, DE COMERCIO Y DE ARTESANÍA

DIRECCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN INDUSTRIAL

OFICINA ITALIANA MARCAS Y PATENTES

Autenticación de copia de documentos referentes a la solicitud de patente para P.C.T.

N. PTC/IT99/00317 DEL 11.10.1999

Se declara que la unidad de copia se encuentra conforme con los documentos originales depositados con la solicitud de patente arriba señalada, cuyos datos aparecen en el proceso verbal de depósito que se anexa.

Roma, 5 de Octubre de 2000

FIRMA DEL DIRECTOR DE LA DIVISIÓN

DR. A. CAPONE

"Uso de la L-Carnitina y de sus derivados alcanol derivados como agente osmótico en soluciones para uso medico"

El presente invento hace referencia al uso de la L-carnitina y de sus alcanol derivados, eventualmente bajo la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, como agente osmótico en soluciones para uso medico, en particular en la diálisis peritoneal.

Fondo de la invención

La población que sufre de enfermedades renales terminales (conocidas en el ámbito internacional como End-Stage Renal Disease o ESRD) sometidas a terapias de diálisis o a trasplante de riñón. Las dos intervenciones terapéuticas son extremadamente gravosas, tanto desde el punto de vista de la calidad de vida del paciente, como el de los costos sociales; para una reseña de la terapia de diálisis estudiase por ejemplo Pastan S. y Bailey J. En "The New England Journal of Medicine" 14 de mayo de 1998, páginas 1428-1436, aquí totalmente incorporado como referencia.

La terapia de diálisis comprende dos tipos de tratamiento, respectivamente la diálisis peritoneal y la hemodiálisis. Entre los dos tipos de diálisis existen diferencias importantes, como, en el caso de la hemodiálisis, el costo de la terapia, la demanda de unidades dedicadas con costosos equipos y personal calificado, la calidad de vida del paciente. Por el contrario, la diálisis peritoneal goza de mayor favor por su sencillez de ejecución, que puede ser practicada por el paciente mismo como automedicación. Por ejemplo en Italia el 15% de los dializados recurre a la diálisis peritoneal, como en Estados Unidos (16%), mientras que estos valores suben en el caso de Canadá (38%), Reino Unido (52%), hasta el 90% en México. La razón de la disparidad de estas cifras se debe analizar también

por el costo inferior respecto de la hemodiálisis, que no todos los sistemas sanitarios nacionales están dispuesto a garantizar. Pero no hay que dejar de lado que la diálisis peritoneal le permite al paciente mantener un estilo de vida menos restringido, desde el momento que la sesión puede ser programada con una cierta autonomía durante la actividad normal de la persona. Además, dispositivos automáticos permiten efectuar la diálisis durante las horas de la noche.

No obstante, la escogencia entre los dos tipos de diálisis no es del todo libre, por ejemplo la diálisis peritoneal está indicada para pacientes con insuficiencia cardiaca o angina inestable que no soportan alteraciones de flujo y/o presión arterial que acompañan la sesión de hemodiálisis (ver la referencia arriba citada).

Se puede hipotizar un camino terapéutico para el paciente ESRD que parte de la diálisis peritoneal y, a través de la hemodiálisis, llega a la necesidad del trasplante de órgano.

La diálisis peritoneal también tiene desventajas y efectos indeseados. Los inconvenientes se pueden identificar en dos categorías, aunque interrelacionadas : efectos clínicos indeseados y problemas tecnológicos. La presente invención se propone resolver las desventajas y los efectos indeseados.

En la ejecución típica de una sesión de diálisis peritoneal, un catéter de plástico se implanta en la cavidad peritoneal y anclado a los tejidos subcutáneos. Una solución dialítica contiene cantidades fisiológicas de sodio, calcio, magnesio, tapón fisiológicamente compatible y un agente osmótico no tóxico, capaz de hacer que la solución sea hiperosmolar respecto del plasma. La solución se introduce a través del catéter en la cavidad peritoneal para que permanezca ahí por varias horas. Durante este tiempo, la membrana peritoneal intercambia por difusión solubles, de manera que sustituye fluido fresco. Debido a que la función renal

disminuye en los primeros años de diálisis, la dosis de líquido dialítico para intercambio aumenta con el tiempo.

La peritonitis es la complicación grave que aparece con mayor frecuencia. Otros tipos de complicación son la pérdida de aminoácidos y albúmina, la incompatibilidad de la solución dialítica, efectos de volumen en la cavidad peritoneal, consecuencias metabólicas, síntomas a cargo del aparato digestivo, disminución del apetito y otros, para una reseña ver Charles M. Mion y R. Gokal e N.P. Mallick, Lancet, 1999; 353: 823-28.

Uno de los problemas más notorios de la diálisis peritoneal es la escogencia de un oportuno agente osmótico.

Entre los requisitos de una solución ideal para diálisis peritoneal se encuentran :

- suministrar los requerimientos nutricionales, evitando efectos metabólicos colaterales;
- tener una absorción mínima de agente osmótico, que de todas formas no debe ser tóxico;
- estar en capacidad de corregir acidosis y tener un pH fisiológico;
- además de consideraciones con implicaciones tecnológicas, como la aptogenicidad, la ausencia de metales, residuos de materiales sintéticos, la solución debe inhibir el crecimiento de bacterias y hongos, no dañar las defensas inmunológicas y debe ser inerte hacia la membrana peritoneal.

Una típica solución para diálisis peritoneal comprende glucosa, en diferentes concentraciones, como agente osmótico, y diferentes cantidades de lactosa (que ha sustituido al acetato a causa de diversos problemas de intolerancia por parte del paciente), sodio, potasio y calcio. También los sistemas de tapón han sido estudiados, tratando de obviar el problema de la esterilización y estabilización de la solución.

Por lo que se refiere a la esterilización, este es un problema tecnológico crítico, de hecho, la esterilización térmica, comúnmente utilizada en el sector de las soluciones para uso médico, provoca la degradación de la glucosa, con la consiguiente producción de derivados secundarios tóxicos, como aldehídos y 5-hidroximetilfurfural. Tradicionalmente, la esterilización térmica de la solución que contiene glucosa (también llamada dextrosa) se efectúa a pH entre 5,0 y 5,5 justo para evitar la caramelización de la glucosa. El pH ácido conlleva otros problemas al paciente que utiliza la solución, por ejemplo dolor abdominal y esclerosis de la membrana peritoneal, lo que comporta la disminución de la eliminación de los solubles (Schmidt y al. Arch.Int.Med., 141 : 1265-1266, 1980).

La presente invención tiene también como objetivo suministrar una solución a los problemas conexos a la utilización de glucosa como agente osmótico en las soluciones de diálisis peritoneal.

La glucosa es ampliamente utilizada por su gran disponibilidad en el mercado y su bajo costo. Es una sustancia relativamente segura, pero la utilización en elevadas concentraciones y la pronta absorción conlleva tiempos breves de ultrafiltración, complicaciones metabólicas, como hiperinsulinemia, hiperlipidemia, aumento de peso. Además, la hiperosmolaridad y el bajo pH pueden dañar el mesotelio y los macrófagos. Además, la potencial glicosilación de las proteínas del estroma conlleva un posterior daño al peritoneo. Se señalan también la inhibición de la fagocitosis, de la actividad bactericida de la síntesis de LTB₄ en los neutrófilos de la sangre periférica. En la diálisis peritoneal continua ambulatoria (Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis, CAPD), donde el tiempo de aplicación llega hasta las 6 horas, para poder mantener la capacidad de ultrafiltración, las concentraciones de glucosa son muy elevadas. Para una reseña de la bio compatibilidad de las

soluciones para diálisis peritoneal ver también C.J. Holmes en Peritoneal Dialysis International, Vol. 13, pp. 88-94, 1993.

Para superar los problemas ocasionados por la utilización de glucosa como agente osmótico en la diálisis peritoneal, el estado del arte dirige al experto del sector hacia dos diferentes tipologías de solución :

1. el uso de agentes osmóticos de bajo peso molecular, capaces de sostener la ultrafiltración con mínimos efectos metabólicos, sin alterar el perfil de ultrafiltración;
2. el uso de agentes osmóticos de alto peso molecular en el intento de actuar sobre los dos factores.

Estas propuestas alternativas a la glucosa no están libres de problemas : otros sacáridos dan efectos metabólicos, por ejemplo la fructosa da hipertrigliceridemia e hiperosmolalidad, el sorbitol hiperosmolalidad y acumulación, el xilitol acidosis láctica e hiperosmolalidad, el glicerol se tolera bien, pero la capacidad de ultrafiltración tiene duración breve y produce también hiperosmolalidad, se señaló también un efecto negativo sobre los fagocitos (de Fijter CWH y al., Advances In Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis. Toronto, Peritoneal Dialysis Publication, 1991 : 154-7), los aminoácidos, si bien utilizados en pacientes mal nutridos, dan lugar a acidosis y aumentan la carga de nitrógeno, que en un paciente urémico se encuentra contraindicado. Por el contrario, los agentes de alto peso molecular muestran una serie de desventajas propias, como posible inmunogenicidad por los péptidos, absorción, sangrado intraperitoneal (demostrado en los muestreos) y ultrafiltración por los destranos (PM 60-200 Kda), inestabilidad cardiovascular, daño peritoneal y hemorragia por polianiones y cationes (PM 40-90 Kda), emivita prolongada, inmunogenicidad, alergia y viscosidad elevada de la solución por las

gelatinas (PM 20-390Kda), retención de maltosa por los polímeros de la glucosa.

Sin embargo, efectos indeseados de la solución para diálisis peritoneal no se derivan solo del agente osmótico escogido, sino también de otros componentes de la solución. Por ejemplo el lactato, cuando se combina con bajo pH de la solución, necesario para poder efectuar la esterilización, suprime diversos aspectos funcionales de los leucocitos periféricos y peritoneales, inhibe la producción de IL-6 y TNFa por parte de las células mononucleadas.

En su reseña sobre los agentes osmóticos, Gokal concluía en 1990 que en el momento no existía un agente osmótico capaz de reemplazar a la glucosa (Coles GA, Davies M, Williams JD (eds) : CAPD : Host Defense, Nutrition and Ultrafiltration. Contrib. Nephrol. Basel, Karger, 1990, vol. 85, pp. 126-133).

El esfuerzo para ofrecer un agente osmótico alternativo a la glucosa, que responda, o por lo menos se acerque a los requisitos de la solución "ideal" es enorme. Entre las numerosas referencias de patentes se cita la patente JP 11071286, a nombre de Terumo Corp., que describe una solución donde el agente osmótico consiste en una mezcla de glucosa y maltosa en relaciones moleculares 1:0,05 - 5 y presión osmótica de 280-600 mOsm/kg a pH 6,0-7,5 con características mejoradas de remoción de agua y menor absorción de glucosa. Para pacientes diabéticos, obesos, la misma firma suministra un agente osmótico complejo, formado por un N-acetilamino ácido (L-aminoácido), N-acetil-D-glucosamina, ácido glucurónico y/o ascórbico (patente JP 11071273). Mezclas de sacáridos con alcoholes exavalentes alicíclicos, ácido esónico y ácido sácrico están descritas en JP 11049671, a nombre de Baxter Int. Inc. La solicitud WO 9901144, Allied Therapeutics Ltd., describe di-e-trisacáridos hidrogenatos sintéticos. La patente MX 9601855, Trevino, utiliza destrano 60. La Baxter, en la patente JP 10094598, proponía oligosacáridos o polisacáridos que no reducen y que

126
124

contienen de 3 a 12 residuos. En la solicitud WO 9801141, Bieffe medical SpA, se describe el uso de glicosaminolicanos, privados de actividad anticoagulante o hemorrágica. En las patentes US 5629025, US 5589197, US 5631025, a nombre de Baxter International Inc., se describen soluciones para diálisis peritoneal de bajo contenido de sodio, para las cuales se prevén como agentes osmóticos sustancias que contienen al menos un aminoácido o un polipeptido, o una poliglucosa. La Universidad de Missouri suministra gelatina reticulada por vía química como agente osmótico como sustitución total o parcial de la glucosa (US 4604379). Hidrolizados de amida están descritos en US 5837060, a nombre de Roquette Freres. En la patente JP 7323084, Morishita Roussel KK y Ajinomoto Co. Inc., está descrito el uso del trialosio para preparar soluciones neutras, en reemplazo de la glucosa. Ver también US 4761237.

Tratando en mayo detalle los agentes osmóticos de bajo peso molecular, a los cuales se refiere la presente invención, el estado de arte suministra una enseñanza directa hacia la utilización de aminoácidos o breves peptidos, ventajosos desde el punto de vista del soporte nutricional de pacientes desnutridos. Baxter International Inc. Suministra en el uso de la patente US 5776503 una mezcla de aminoácidos muy compleja, pero hasta la fecha no superada, aún teniendo un costo muy alto, de las muchas alternativas propuestas. La patente US 5780438, a nombre de Giltech Limited, describe una solución estable, donde el agente osmótico está constituido por un amezcla de peptidos obtenidos de la proteolisis de la caseína o de las proteínas del suero de la leche. La patente US 5869444, a nombre de research Corporation Technologies, discute ampliamente las alternativas a la glucosa y encamina al experto del sector hacia los agentes osmóticos de bajo peso molecular de naturaleza aminoácídica. Sin embargo, aún admitiendo el beneficio nutricional, antes citado, se subraya la desventaja del elevado costo, del aumento de la carga azufre en la sangre. Por lo

127
125

tanto, en esta patente se propone la utilización de oligopeptidos (300-2000 Da) que se derivan de la hidrólisis enzimática de proteínas de elevada calidad, como del suero de la leche, ventajosos tanto desde el punto de vista funcional de la diálisis como desde el punto de vista nutricional. En esta patente, se advierte la exigencia de un proceso de hidrólisis y separación muy esmerado y controlado, para evitar el riesgo de componentes de elevado peso molecular, potenciales antígenos o alérgenos. Entre las fuentes protéicas, se citan el colágeno, cuyo uso hoy se pone en duda por problemas de contaminación prionica (BSE, "scrapie"), proteínas de la leche, pero no la caseína, y otras. En el curso de la descripción, los inventores admiten una serie de dificultades al asegurar la calidad del procedimiento de hidrólisis.

Con respecto a otros aspectos de la diálisis peritoneal se citan DE 19748290, WO 991762, JP 10330270, WO 9852599, WO 9850060, CA 2219822, WO 9917762 y US 5827820.

Todos los documentos citados se incorporan aquí como referencia.

Resumen de la invención

Sorprendentemente se descubrió que la L-carnitina, o, en alternativa o en combinación con sus derivados con alcohol inferior, es útil como agente osmótico en la preparación de soluciones para diálisis peritoneal, y en general como agente osmótico para soluciones para uso médico.

Es objeto de la presente invención el uso de la L-carnitina y de sus alcoholes derivados inferiores, donde por alcohol derivado inferior se entiende un residuo acílico alifático, lineal o ramificado el cual tiene de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, como agente osmótico en soluciones para uso médico, en particular para la preparación de soluciones para diálisis peritoneal. Son también objeto de la presente invención soluciones

para uso medico caracterizadas por el hecho que el agente osmótico es la L-carnitina, o un alcohol derivado, como arriba definido, eventualmente en combinación entre ellos o en asocio con uno o más agentes osmóticos conocidos.

La L-carnitina y sus alcoholes derivados inferiores son conocidos para diferentes usos terapéuticos. En particular, la patente US 4327167 , a nombre de la solicitante, describe la utilización de los alcoholes carnitinas, entendidas como antes se indicó, en un método terapéutico para el tratamiento de pacientes urémicos crónicos sometidos a diálisis regulares. Se describen también soluciones polisalinas para hemodiálisis que contienen un alcohol carnitina. La patente EP 0793962, a nombre de la solicitante, describe el uso de propionil L-carnitina para la preparación de un medicamento útil en el tratamiento selectivo de la arteriosclerosis crónica obliterante (claudicatio intermittens). La patente IT 1155772, a nombre de la solicitante, describe el uso de alcohol L-carnitina en la terapia de la anoxia miocárdica, de la isquemia, de los síndromes arritmicos y de las insuficiencias cardíacas. La patente US 4255449, a nombre de la solicitante, describe el uso de la L-carnitina en el tratamiento de las dislipidemias. La solicitud de patente WO 9906039, a nombre de la solicitante, describe el uso de L-carnitina y de sus alcoholes derivados en asocio con policosanoles para el tratamiento de dislipidemias. Existen numerosas descripciones de asociaciones de L-carnitina y alcohol derivados en asocio con otros principios activos, por ejemplo ácido gamma-linolénico (ver WO 9841113) para el tratamiento y prevención de los efectos colaterales de la diabetes mellitus, en particular la neuropatía periférica.

La patente US 4272549 enseña la utilización de especiales regímenes de suministro de L-carnitina, combinados por vía oral y endovenosa para

124
125

combatir el síndrome post-dialítico en pacientes urémicos que se someten a tratamiento regular de hemodiálisis.

La patente US 4237167 enseña el uso de particulares regímenes de suministro de acil L-carnitina, combiandos por vía oral y endovenosa para combatir el síndrome post-dialítico en pacientes urémicos que se someten a tratamiento regular de hemodiálisis.

La solicitud de patente WO 9907419, a nombre de Gupta, describe composiciones para diálisis que comprenden una cantidad eficaz de por lo menos una vitamina escogida en el grupo que se compone de ácido fólico, vitamina B6, tiamina, vitamina B12, eventualmente vitamina C y/o carnitina. El fin de estas preparaciones es el de compensar la pérdida de vitaminas en pacientes en diálisis, bien sea hemodiálisis o diálisis peritoneal. Las cantidades eficaces se indican en la descripción. Para la L-carnitina libre, se especifica una cantidad menor de 50 umoles/l en el dializado durante cada sesión de diálisis, para la prevención de deficiencias de vitaminas y carnitina. Las concentraciones preferidas están comprendidas entre 50 y 300 umoles/l. Por lo tanto, la cantidad de L-carnitina presente en las soluciones descritas por Gupta es inferior a la cantidad necesaria para que la L-carnitina actúe como agente osmótico.

La ventaja de utilizar la L-carnitina o uno de sus alcanol derivado, como se definió antes, es múltiple. La sustitución de la glucosa con la L-carnitina, o de uno de sus alcanol derivado, elimina los efectos indeseados arriba descritos. Además, las carnitinas (entendidas como L-carnitina o sus alcanoles derivados como se definieron en la presente invención) son compatibles con el tapón de bicarbonato, obviando la desventaja de tener que utilizar soluciones con pH inferior a aquel fisiológico, como el pH 5,0-5,5 típico de soluciones con glucosa.

El uso de carnitina, en particular la L-carnitina, acetil L-carnitina, propionil L-carnitina, es ventajoso respecto a otros agentes osmóticos conocidos

porque las carnitinas son sustancias no tóxicas, bien toleradas y sin efectos indeseados en las dosis descritas más adelante. A diferencia de los aminoácidos, las carnitinas no entran en el metabolismo protéico, por lo tanto no agravan la carga de nitrógeno del paciente urémico. Por lo que se refiere a la diferencia con agentes osmóticos con alto peso molecular, la ventaja es inmediata : las carnitinas son sustancias naturales, presentes en los seres vivos, en particular en los mamíferos, incluido el hombre. Por tal motivo se elimina el riesgo de introducir en el organismo sustancias xenobióticas.

Además, la utilización de las carnitinas como agente osmótico suministra la cantidad necesaria de L-carnitina al paciente en diálisis para compensar las pérdidas de carnitina que ocurren durante la sesión. Sobre niveles de carnitina en los pacientes sometidos a CAPD ver Kidney Int. 1996 Jan; 49 (1) : 158-62 y Perit Dial Int. 1993; 13 Supl. 2

Como ventaja adicional por la aplicación de la presente invención, la carnitina, utilizada como agente osmótico, además de compensar las pérdidas de carnitina, tiene también la posibilidad de desempeñar los efectos terapéuticos sobre los propios en una serie de patologías unidas con la insuficiencia renal. Por ejemplo las patologías descritas en las patentes arriba mencionadas.

La invención se describe ahora en detalle también a través de ejemplos. Otros objetos de la presente invención, con las respectivas ventajas aparecerán al experto del sector respecto del cual hace referencia la presente invención.

Descripción detallada de la invención

Por alcanoil inferior se entiende un residuo acil que posee de 2 a 8 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 6, como acetil, propionil, butiril,

isobutiril, valeril, isovaleril, 2-metilbutiril, 2,2-dimetilpropionil, esanoil, eptanoil, octanoil y todos sus posibles isómeros.

La presente invención prevé el uso de las carnitinas como sales internas. Si se considera oportuno, es posible utilizar una sal farmacéuticamente aceptable. Por sales farmacéuticamente de la L-carnitina o de un alcanoil L-carnitina se entiende cualquier sal de esta con un ácido que no de origen a efectos tóxicos o colaterales indeseados. Tales ácidos son bien conocidos entre los farmaceutas y los expertos en tecnología farmacéutica.

Ejemplos no limitativos de sales farmacológicamente aceptables de L-carnitina o de las alcanoil L-carnitina son cloruro, bromuro, orotato, aspartato ácido, citrato ácido, fosfato ácido, fumarato y fumarato ácido, maleato y maleato ácido, oxalato ácido, sulfato ácido, glucosa fosfato, tartrato y tartrato ácido. Se prefieren las sales con fumarato, aspartato, citrato y maleato.

Son objeto de la presente invención también soluciones para diálisis peritoneal, bien sea bajo la forma de soluciones listas para su uso, bien bajo la forma de concentrado para diluir al momento de la utilización, y que comprenden un agente osmótico según la presente invención.

Las dosis, la posología y el régimen terapéutico en general serán determinados por el médico encargado del tratamiento según su conocimiento, las condiciones del paciente y la entidad de la patología a tratar.

En una primera preparación preferida, la presente invención comprende la L-carnitina, sal interior.

En una segunda preparación preferida la L-carnitina se encuentra bajo la forma de sal con ácido fumárico. Aunque sin querer estar ligada a teoría alguna, la solicitante considera que la sal de fumarato puede ser particularmente ventajosa por suplir la necesidad energética del paciente

dializado. De hecho, el fumarato es un sustrato energético, útil en el tratamiento de las isquemias del órgano. La solicitante ha demostrado la eficacia de la L-carnitina fumarato en el tratamiento de las isquemias de órgano, en especial en la isquemia cardíaca, como se describe en la solicitud de patente 99RM0003328, aquí incorporada como referencia.

En una tercera preparación de la presente invención está prevista la combinación entre L-carnitina y acetil L-carnitina. Esta combinación es más ventajosa por suministrar un suplemento de acetil L-carnitina al paciente.

En la descripción de las posibles preparaciones de la invención por carnitina se entiende la L-carnitina, como sal interior o como sal con un ácido farmacéuticamente aceptable, como arriba descrito, sola o en asocio con uno de sus alcanoil derivado, como sal interior o como sal con un ácido farmacéuticamente aceptable, o uno de sus alcanoil derivado, como sal interior o como sal con un ácido farmacéuticamente aceptable.

En un primer aspecto de la presente invención, la carnitina se utiliza como agente osmótico en sustitución total de la glucosa.

Las concentraciones de carnitina son suficientes para actuar como agente osmótico y se prevén hasta una concentración fisiológicamente tolerable. Se entiende que la concentración de carnitina será tal que garantizará un efecto satisfactorio para los usos entendidos en la presente invención. En particular, se considera satisfactorio el efecto obtenido que pueda ser considerado in efecto terapéutico comprendido en los significados de diálisis peritoneal.

Donde no se encuentre especificado, las concentraciones se entienden en peso/volumen (p/v).

Ejemplos de concentraciones son de alrededor de 0,5 a 10% preferiblemente de 0,7 a casi 7%, más preferiblemente de casi 1 a casi 5%. En una típica preparación de la presente invención, las concentraciones

de carnitina son aquellas normalmente utilizadas para la glucosa en las preparaciones comerciales, o sea entre 1,5% y 4,25%.

Se entiende que el experto del sector será capaz de determinar las concentraciones eficaces según el tipo de solución utilizada. Ejemplos son concentraciones a partir de 0,5%.

Si se desea, como alternativa, la carnitina puede ser utilizada como sustitución parcial de la glucosa. Los porcentajes de carnitina y de glucosa pueden ser libremente variadas entre sí, con la condición que se obtenga un efecto satisfactorio para los usos comprendidos en la presente invención. Ejemplos de combinaciones con glucosa son 4,0% glucosa - 0,25% carnitina; 1,0% glucosa - 0,5% carnitina; 0,5% glucosa - 1,0% carnitina; 0,25% glucosa - 4,0% carnitina. Se prefiere la combinación 0,5% glucosa - 1,0% carnitina.

Otras posibles preparaciones de la invención son la asociación de carnitina como agente osmótico con otros agentes osmóticos conocidos, como por ejemplo se prefiere la asociación con aminoácidos, como las formulaciones ya presentes en el comercio, o con los dipeptidos y/o polipeptidos de las patentes citados antes. Una preparación particularmente ventajosa es la utilización de la carnitina en las bolsas dobles descritas en la patente DE 19748290, que utiliza tapón bicarbonato. Útil es el aumento de las dosis de carnitina, en especial L-carnitina en las soluciones descritas en WO 9907419 hasta llegar a una concentración eficaz como agente osmótico.

En otra preparación posible, el agente osmótico de acuerdo a la presente invención es utilizado en combinación con los agentes osmóticos descritos en la patente US 5827820, a nombre de Baxter International Inc.

Se prevé también el uso del agente osmótico según la presente invención combinado con agentes osmóticos de alto peso molecular, como por

ejemplo los descritos en las referencias arriba citadas, en particular la lcodestrina.

En una especial preparación de la presente invención, se agrega a la solución para diálisis peritoneal un tensoactivo (o surfactante) normalmente utilizado en este sector. Se hace mención específica de la palmitoil L-carnitina.

Constituyen específico objeto de la presente invención soluciones para uso medico caracterizadas por el hecho que el agente osmótico es la L-carnitina, y/o sus alcanol derivados, en los cuales el alcanol es un residuo alifático, lineal o ramificado que contiene de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de una sal farmacéuticamente aceptable. Son particular objeto de la presente invención soluciones para diálisis peritoneal.

Por lo que se refiere a los aspectos atinentes la aplicabilidad industrial, las soluciones objeto de la presente invención serán conservadas en contenedores para diálisis peritoneal, generalmente bolsas en material idóneo compatible para uso medico. Contenedores para diálisis peritoneal son conocidos por el experto del sector y no requieren de explicación detallada, reenviando la lectura específica a los conocimientos generales del sector técnico al cual hace referencia la invención. Ejemplos son las bolsas de una sola cámara o cámara múltiple, por ejemplo doble, o bolsas separadas que contienen soluciones diferentes para mezclar el momento de su uso incluso por medio de aparatos automáticos. Contenedores para diálisis peritoneal que contienen una solución según la presente invención hacen parte del ámbito de protección de la presente solicitud de patente.

La presente invención se describe ahora a través de pruebas experimentales que permiten la actuación de la preparación preferida. Se sobreentiende que las preparaciones equivalentes, que entran en el

ámbito de la presente invención son actuables por el técnico del sector recurriendo únicamente a los conocimientos generales, incluso con el método de prueba y error, sin necesidad de descripciones más detalladas por parte de la presente invención.

Estudios de transporte in vitro

El transporte de fluido ha sido efectuado usando tubos constituidos por membranas semipermeables de celulosa los cuales contenían las diferentes soluciones de diálisis.

Soluciones tapón fueron agregadas con concentraciones escalonadas de carnitina (0.5, 1.0, y 1.5%) en un tapón bicarbonato (30mM) y NaCl (100 mM) de pH 7.2. Una solución de glucosa 1.5% se usó, como referencia.

La composición de las soluciones tapón es la siguiente : sodio 134 mmol/l, calcio 1.75 mmol/l, magnesio 0.5 mmol/l. Las soluciones que contienen glucosa fueron taponadas a pH 5.5 con 35 mmol/l de L-lactato. Las soluciones que contienen carnitina fueron taponadas como para la glucosa donde con pH 7.0-7.6 con 36 mmol/l de bicarbonato. En los tubos se colocaban 10 ml de las diferentes soluciones de diálisis y dichos tubos se suspendían en un cilindro graduado de 1 litro lleno de solución 0.9% de NaCl. El baño de salina se hacía recircular a una velocidad de 500 ml/min con un flujo directo a lo largo del eje mayor del tubo de diálisis con un abomba de infusión. La cantidad de fluido requerido al interior del tubo se determinaba gravimétricamente, luego de haber removido con una hoja de papel absorbente el fluido adhesivo a las paredes de la membrana. El tubo se recolocaba al interior del cilindro y sometido a posteriores mediciones de peso en diferentes tiempos : 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360 min.

En la tabla 1 se muestra el aumento de peso del fluido requerido de la solución de diálisis con el paso del tiempo.

TABLA 1

Transporte de fluido inducido por 10 ml de líquido que contiene diferentes concentraciones de carnitina o glucosa

Tiempos (min)	Carnitina 0,5% (g de fluido)	Carnitina 1,0% (g de fluido)	Carnitina 1,5% (g de fluido)	Glucosa 1,5% (g de fluido)
15	0,02 ± 0,01	0,07 ± 0,02	0,10 ± 0,01	0,09 ± 0,02
30	0,06 ± 0,01	0,13 ± 0,02	0,26 ± 0,03	0,19 ± 0,03
45	0,10 ± 0,03	0,20 ± 0,03	0,30 ± 0,02	0,27 ± 0,02
60	0,12 ± 0,02	0,22 ± 0,03	0,35 ± 0,04	0,31 ± 0,04
90	0,17 ± 0,03	0,33 ± 0,03	0,48 ± 0,04	0,41 ± 0,04
120	0,19 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,54 ± 0,04	0,47 ± 0,04
180	0,21 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,66 ± 0,04	0,54 ± 0,04
240	0,27 ± 0,02	0,49 ± 0,03	0,77 ± 0,05	0,59 ± 0,04
300	0,29 ± 0,02	0,51 ± 0,03	0,77 ± 0,04	0,63 ± 0,05
360	0,27 ± 0,03	0,48 ± 0,04	0,74 ± 0,05	0,62 ± 0,04

Los valores representan el promedio (n=3) ± D.S. de 3 diferentes experimentos.

El aumento de peso del tubo de diálisis en función de diferentes concentraciones de carnitina aumenta progresivamente en el tiempo. El plateau se alcanza para todas las concentraciones ensayadas a 240 minutos. El desempeño de las muestras que contienen glucosa 1.5% es comparable a las muestras que contienen carnitina 1.5%.

Experimento en vivo

El experimento de diálisis peritoneal ha sido llevado a cabo en ratas Sprague-Dawley machos de peso entre 500-600 g (Charles River) mantenidos con una dieta standard de agua "ad libitum". Los animales se anestesiaban con una inyección intraperitoneal de inactina (100 mg/kg) y eran colocados sobre una mesa de cirugía a temperatura controlada. Sobre los animales se efectuaba una traqueostomía para encanular la vena yugular izquierda con un tubo de silicona medicinal PE50. Los animales, 30 minutos después de suministrado el anestésico, se les aplicaba una solución salina a una velocidad de 2,3 ml/hr durante todo el experimento. La solución de diálisis (15 ml) después de haber sido precalentada a 37° C, se inoculaba en la cavidad peritoneal con una agucánula en teflón de 15, 1 hora después de haber suministrado el anestésico. La cantidad de fluido inyectado se determinaba pesando la jeringa antes y después de la inyección del líquido, usando una balanza electrónica. Al final de cada tiempo de análisis (2, 4 y 6 horas) el abdomen de las ratas se incidía con un bisturí eléctrico y todo el fluido presente en el peritoneo se aspiraba con una jeringa de 1 ml. Después de haber removido el líquido superficial, los intestinos se separaban con cuidado de la cavidad abdominal para recoger el residuo de fluido que quedaba sobre la pared dorsal. El líquido recuperado se colocaba en un beaker y se pesaba. La variación de peso respecto al tiempo 0, representaba la cantidad de líquido referida en la solución peritoneal inyectada.

Se efectuaron una serie de experimentos en vivo siguiendo el modelo experimental arriba descrito para evaluar la capacidad de transporte de diversos fluidos de diálisis con carnitina.

Los datos referentes al peso inicial y final del fluido recuperado del peritoneo de los animales en diferentes tiempos se usaban para calcular el incremento porcentual de volumen de cada animal.

En la Tabla 2 se reportan los datos referentes a un experimento en el cual se utilizaba como líquido de diálisis glucosa en diversas concentraciones (1,5, 2,5, 4,25%). Dichas soluciones hiperosmóticas constituyen nuestro control porque son las usadas comúnmente en la práctica clínica.

TABLA 2

Variaciones porcentuales del volumen de líquido recuperado de ratas sometidas a diálisis peritoneal con 15 ml de solución de diferentes concentraciones de glucosa

Soluciones	Incremento % volumen (2 hr)	Incremento % volumen (4 hr)	Incremento % volumen (6 hr)
Glucosa 1,5%	21,1 ± 1,5	21,5 ± 1,9	21,7 ± 1,6
Glucosa 2,5%	35,2 ± 1,4	35,9 ± 1,3	36,8 ± 1,5
Glucosa 4,25%	59,8 ± 1,6	60,5 ± 1,7	59,1 ± 1,6

Los resultados se expresan como promedio (n=3) ± D.S.

La glucosa en todas las concentraciones utilizadas causa un incremento del volumen de fluido intraperitoneal que se completa en las primeras 2 hr. De hecho, a 4 y 6 hr. El volumen del líquido en el peritoneo permanece constante.

El mismo experimento ha sido conducido utilizando concentraciones escalonadas de carnitina. Los resultados han sido reportados en la Tabla 3.

TABLA 3

Variaciones porcentuales del volumen de líquido recuperado en ratas sometidos a diálisis peritoneal con 15 ml de solución con diferentes concentraciones de carnitina

Soluciones	Incremento % volumen (2 hr)	Incremento % volumen (4 hr)	Incremento % volumen (6 hr)
Glucosa 1,5%	25,8 ± 1,3	22,5 ± 1,6	25,3 ± 1,4
Glucosa 2,5%	35,1 ± 1,4	37,3 ± 1,4	38,5 ± 1,6
Glucosa 4,25%	61,5 ± 1,5	64,1 ± 1,8	62,3 ± 1,9

Los resultados se expresan como promedio (n=3) ± D.S.

También la carnitina se muestra como un buen agente osmótico tanto como la glucosa. La variación percentual de incremento de líquido intraperitoneal es ligeramente superior a la producida por la glucosa. El fenómeno de requerimiento de líquido por parte de la solución que contiene carnitina es también en este caso veloz y alcanza el máximo de actividad al interior de las 2 hr sin producir posteriores aumentos de volumen en los tiempos sucesivos (4, 6 hr).

Confirmada la actividad en vivo de la carnitina como agente osmótico para la diálisis peritoneal hemos conducido una serie de experimentos utilizando la carnitina en mezclas con glucosa o aminoácidos (aa), manteniendo el % total de los osmolitos igual a 1,5%. Los resultados se resumen en la Tabla 4.

En la Tabla 5 se muestra, en cambio, la composición relativa de la mezcla de aminoácidos utilizada. La composición de la solución aminoácídica es

140
138

aquella optimizada para minimizar la acidosis metabólica que puede instaurarse cuando se utilizan dichas soluciones.

TABLA 4

Variaciones porcentuales del volumen de líquido recuperado en ratas sometidos a diálisis peritoneal con 15 ml de solución con diferentes mezclas de carnitina, glucosa y aminoácidos (aa)

Soluciones	Incremento % volumen (2 hr)	Incremento % volumen (4 hr)	Incremento % volumen (6 hr)
Carnitina 1,5%	25,8 ± 1,3	22,5 ± 1,6	25,3 ± 1,4
Glucosa 1,5%	21,1 ± 1,5	21,5 ± 1,9	21,7 ± 1,6
Car+Glu 1,0+0,5%	25,6 ± 1,6	28,4 ± 1,6	27,6 ± 1,5
Car+aa 0,5+1,0%	24,6 ± 1,2	26,4 ± 1,3	25,3 ± 1,2
Car+aa 0,8+0,7%	23,1 ± 1,5	24,5 ± 1,4	26,0 ± 1,5
Car+aa 1,0+0,5%	25,9 ± 1,5	28,4 ± 1,5	33,8 ± 1,4

Los resultados se expresan como promedio (n=3) ± D.S.

Para todas las soluciones ensayadas el requerimiento de líquido en las dos primeras horas es comparable y varía entre 21,7 y 25,9%. Además, dicho incremento permanece constante en los tiempos de análisis posteriores (4 y 6hr) para todas las soluciones, salvo que por una tendencia al incremento en el tiempo, para la solución que contiene Car+aa (1,0+0,5%).

TABLA 5

Composición de la solución que contiene aa :

AMINOACIDOS	CONCENTRACIÓN (mg%)
Leucina	74-112
Valina	100-151
Treonina	47-71
Isoleucina	61-92
Lisina.HCl	55-83
Istidina	52-78
Metionina	32-48
Fenilalanina	42-62
Triptofano	20-30
Alanina	68-103
Prolina	43-65
Arginina	60-113
Glicina	36-55
Serina	48-72
Tirosina	20-35
Aspartato	55-83
Glutamato	55-83
Fenilalanina/Tirosina	1,3-3,0
Acidos generantes/neutralizantes	1-2,2
Esenciales/Totales	0,4-0,7

Los siguientes ejemplos ilustran más en detalle la invención.

Ejemplo 1

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	1,5	%

Ejemplo 2

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	2,5	%

Ejemplo 3

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	4,25	%

143
141

Elemplo 4

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	1,0 %	
Glucosa	0,5 %	

Sodio	134,0	mmol/l
-------	-------	--------

Elemplo 5

Solución para diálisis peritoneal

Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	1,0 %	

Mezcla de aminoácidos como en la Tabla 5 0,5 %

Elemplo 6

Solución para diálisis peritoneal en doble bolsa

Bolsa 1

Sodio	193,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	103,5	mmol/l

Lactato	35,0	mmol/l
Glucosa	0,5-4,0	%

Bolsa 2

Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	4,0-0,5	%

Ejemplo 7

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Potasio	2,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	105,5	mmol/l
Bicarbonato	34,0	mmol/l
L-carnitina	1,5-4,25	%

Ejemplo 7

Solución para diálisis peritoneal

Sodio	134,0	mmol/l
Potasio	2,0	mmol/l
Calcio	1,75	mmol/l
Magnesio	0,5	mmol/l
Cloruro	105,5	mmol/l
Bicarbonato	35,0	mmol/l
L-carnitina	0,5-4,0	%
Glucosa	4,0-0,5	%

REIVENDICACIONES

1. Uso de la L-carnitina y/o de sus alcanoil derivados, en los cuales el alcanoil es un residuo alifático, lineal o ramificado con de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, como agente osmótico en soluciones para uso médico.
2. Uso de acuerdo a la reivindicación 1, en el cual dicho agente osmótico es la L-carnitina.
3. Uso de acuerdo a la reivindicación 1, en el cual dicho agente osmótico es la acetil L-carnitina.
4. Uso de acuerdo cualquier reivindicación 1-3, donde dicho agente osmótico es un acombinação de L-carnitina y de por lo menos uno de sus alcanoil derivado.
5. Uso de acuerdo a la reivindicación 4, en donde dicho alcanoil derivado es acetil L-carnitina.
6. Uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o de la reivindicación 4 o 5, en el cual al menos otro agente osmótico se encuentra en asocio en la solución para uso médico.
7. Uso de acuerdo a la reivindicación 6, en el cual dicho agente osmótico es glucosa.
8. Uso de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el cual dicha solución para uso médico es utilizada para la diálisis peritoneal.
9. Solución para uso medico caracterizada por el hecho que el agente osmótico es la L-carnitina, y/o uno o más alcanoil derivados de L-carnitina, en el cual el alcanoil es un residuo alifático, lineal o ramificado

con de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de sal con un ácido farmacéuticamente aceptable.

10. Solución para diálisis peritoneal caracterizada por el hecho que el agente osmótico es la L-carnitina, y/o uno o más alcanoil derivados de L-carnitina, en el cual el alcanoil es un residuo alifático, lineal o ramificado con de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de sal con un ácido farmacéuticamente aceptable.
11. Solución de acuerdo a la reivindicación 10, en la cual el agente osmótico es L-carnitina combinada con al menos un alcanoil derivado, en el cual el alcanoil es un residuo alifático, lineal o ramificado con de 2 a 8 átomos de carbono, eventualmente bajo la forma de sal con un ácido farmacéuticamente aceptable.
12. Solución de acuerdo a la reivindicación 11, en la cual dicho alcanoil derivado es acetil L-carnitina, eventualmente bajo la forma de una sal con un ácido farmacéuticamente aceptable.
13. Solución según una de las reivindicaciones 10-12, en la cual dicha sal farmacéuticamente aceptable es seleccionado en el grupo que se compone de fumarato, aspartato, citrato y maleato.
14. Solución según una de las reivindicaciones 10-13, bajo la forma de concentrado.
15. Solución según una de las reivindicaciones 10-13, en la cual dicho agente osmótico es L-carnitina en una concentración de 1,5% p/v.
16. Solución según una de las reivindicaciones 10-14, en la cual dicho agente osmótico está constituido por una combinación de L-carnitina con otro agente osmótico.
17. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo una concentración de 0,5 a 10% p/v.

18. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo la concentración de 0,7 a 7% p/v.
19. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo la concentración de 1 a 5% p/v.
20. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo la concentración de 1,5% p/v.
21. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo la concentración de 2,5% p/v.
22. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es L-carnitina bajo la concentración de 4,25% p/v.
23. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es una combinación de L-carnitina bajo la concentración de 1,0% p/v y de glucosa bajo la concentración de 0,5% p/v.
24. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es una combinación de L-carnitina bajo la concentración de 0,5% p/v y de una mezcla de aminoácidos bajo la concentración de 1,0% p/v.
25. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es una combinación de L-carnitina bajo la concentración de 0,9 p/v y de una mezcla de aminoácidos bajo la concentración de 0,7 % p/v.
26. Solución para diálisis peritoneal, caracterizada por el hecho que el agente osmótico es una combinación de L-carnitina bajo la concentración de 1,0 p/v y de una mezcla de aminoácidos bajo la concentración de 0,5 % p/v.
27. Solución de acuerdo a una de las reivindicaciones 24 - 26, en la cual la mezcla de aminoácidos tiene la siguiente composición :

AMINOACIDOS	CONCENTRACIÓN (mg%)
Leucina	74-112
Valina	100-151
Treonina	47-71
Isoleucina	61-92
Lisina.HCl	55-83
Istidina	52-78
Metionina	32-48
Fenilalanina	42-62
Triptofano	20-30
Alanina	68-103
Prolina	43-65
Arginina	60-113
Glicina	36-55
Serina	48-72
Tirosina	20-35
Aspartato	55-83
Glutamato	55-83
Fenilalanina/Tirosina	1,3-3,0
Acidos generantes/neutralizantes	1-2,2
Esenciales/Totales	0,4-0,7

28. Solución para diálisis peritoneal, de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores que comprende palmitoil L-carnitina como tensioactivo.

29. Contenedor para diálisis peritoneal, que comprende una solución de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones anteriores.

149
107

TITULO

**"Uso de la L-carnitina y de sus alcanoll derivados como agente osmótico
en soluciones para uso médico"**

RESUMEN

Se describe el uso de la L-carnitina y de sus alcanoll derivados, eventualmente bajo la forma de una sal farmacéuticamente aceptable como agentes osmóticos en la preparación de soluciones para uso médico, en especial para diálisis peritoneal.

83297
BRIGARD & CASTRO
BOGOTA - COLOMBIA, S.A.

83297
1A
130
148

**CESION
ASSIGNMENT**

The undersigned

ARDUINI Arduino

Hereby declare(s) that assigns(s) all their rights in and to the

**"Use of L-carnitine and its alkanoyl derivatives agents
in solutions for medical use"**

To the

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

Domiciled

Viale Shakespeare 47 - 00144 Rome -ITALY

In so far as the Republic of Colombia is concerned.

The assignor(s) and the assignee(s) sign(s) this document as proof of their acceptance of the assignment.

Arduino Arduino

ARDUINI Arduino

SIGNATURE OF ASSIGNORS

Signed at _____ on _____

This day of _____ 2000

Emilio Platé

Emilio Platé

SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.

SIGNATURE OF ASSIGNEE

Signed at _____ on _____

This day of _____ 2000

El (los) suscrito (s)

Declara(n) por el presente documento que cede(n) todos los derechos que le(s) correspondan o puedaen corresponderle(s)

A la sociedad

Domiciliada

En cuanto se refiere al territorio de la República de Colombia.

El (los) cedente(s) y el (los) cesionario(s) firman este documento como prueba de su aceptación de la cesión.

FIRMA DE LOS CEDENTES

Firmado en _____ el _____

De _____ de 2000

FIRMA DEL CESIONARIO

Firmado en _____ el _____

De _____ de 2000

AUTENTICA DI FIRMA

Certifico io sottoscritto Dott. ANDREA LORUSSO CAPUTI, Notaio in Pomezia, con Studio in Via Roma n.84, iscritto nel Ruolo dei Distretti Notarili di Roma, Velletri e Civitavecchia, omessa l'assistenza dei testimoni per espressa rinuncia dei comparenti, tra loro d'accordo e col mio consenso che i signori:

- Dottor ARDUINO ARDUINI nato a Caracas (Venezuele) il giorno 11 febbraio 1954 e residente in Roma, Via della Camilluccia n.701, e:

- Dott. EMILIO PLATE', nato a Piacenza il 22 marzo 1937 e domiciliato per la carica in Roma, ove appresso quale Vice Presidente Operativo della "SIGMA TAU - INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.", con sede in Roma, Viale Shakespeare n.47, della cui identità personale, io Notaio sono certo, hanno firmato in mia presenza.

Pomezia li 25 (venticinque) settembre 2000 (duemila).



[Handwritten signature]

PROCURA DELLA REPUBBLICA
presso il Tribunale di Roma

(art. 15 Legge 4 gennaio 1968 n. 15)

N. 1856 Reg. Leg.

VISTO per la LEGALIZZAZIONE

della firma del Sig. Lorusso Caputi Andrea

nella qualità di Notaio

Roma, li 26 OTT. 2000

IL FUNZIONARIO ABILITATO ALLA LEGALIZZAZIONE
Dott. Ferdinando Correale

[Handwritten signature]

13 OTT. 2000

N° 1990

EL CONSUL GENERAL DE COLOMBIA
EN ROMA-ITALIA

Previa la confrontación correspondiente DA
FE de que la firma que aparece en este
documento es similar a la REGISTRADA
aqui por FERDINANDO CORREALE -
LE-PROC. ROMA



PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE: 0,47
Y DERECHOS FONDO ROTATORIO: 0,615

[Handwritten signature]

CARLOS G. LA ROTA LA ROTA
CONSUL GENERAL

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

473454
Carlos G. La Rota
CUYA FIRMA APARECE EN ESTE
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA EN ROMA

2000 NOV 17 10 10 AM

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.

FALTA
FIRMA

151
149

Es fiel traduccion Oficial del Italiano al Español
- - - - - 24 XI 2000

Sobre un documento en papel impreso membreteado de la

Oficina de Abogados de Bogota (Colombia)

BRIGARD & CASTRO

No 83297

Documento de **CESION**

El suscrito **Arduino ARDUINI** declara con este documento
que cede todos los derechos que le corresponden o que
puedan corresponderle por concepto de:

" Uso de L-Carnitine y de sus agentes derivados de
Alkanoyl en soluciones , para uso medico "

Ceden los derechos a la Empresa

"**SIGMA-TAU Industrias Farmaceuticas Reunidas SPA**"
domiciliada en el Viale Shakespeare 47, de 00144 ROMA
Italia, por lo que se refiere a la Republica de Colombia.

Los cedentes y el cesionario firman el documento:

MARIO LIGNAROLO MARENCO
Instituto - Español
Resol. No. 801 - Ministerio de Justicia

132
190

-Aparece firma autografa de Arduino ARDUINI

-Aparece firma autografa de Emilio PLATÉ de la Sigma Tau
Industrias Farmaceuticas Reunidas SPA

El suscrito Notario en Pomezia, con oficinas en la Via
Roma No 84, Dr. Andrea Lorusso Caputi, sin la presencia
de testigos aceptada por el mismo Notario, se presentan

-el Dr Arduino ARDUINI, nacido en Caracas (Venezuela) el
11 Febrero 1954, residente en Roma en la Via della
Camilluccia No 701, y,

-el Dr Emilio PLATÉ, nacido en Piacenza Italia el 22
Marzo 1937, domiciliado para el cargo en Roma como Vice-
Presidente Operativo de la Empresa SIGMA TAU Industrias
Farmaceuticas Reunidas SPA con sede en Roma en el Viale
Shakespeare No 47 de cuyas identidades personales Yo
Notario estoy bien seguro, quienes han firmado ante miel
documento anterior,

Pomezia, del 25 Septiembre 2000 y firma y sello a humedo
circular del Notario Andrea Lorusso Caputi hijo del
difunto Bettino, y sello a humedo.

Sello a humedo 1856 de la Procura o Fiscalia de la
Republica en Roma legalizando la firma de Andrea Lorusso

MARIO LIGNAROLI MARENCO

Traductor e Interprete

Italiano - Espanol

Resol. No. 801 - Ministerio

MINISTERIO DE
EXTERIOR

481
CUBA FISCALIA
DOCUMENTO
LAS FUNDAS

83297

Brigard & Castro

SANTAFE DE BOGOTA- COLOMBIA

PODER

Yo (nosotros)

domiciliado (s) en

Nombro (amos) a: **RAMIRO CASTRO DUQUE y/o HECTOR GOMEZ MEJIA** de Santafé de Bogotá, Colombia, apoderados verdaderos y legales con poder especial, amplio y suficiente, para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, registros de marcas, diseños industriales, modelos de utilidad, depósitos de nombres comerciales y enseñas, registros de derechos de autor y contratos sobre los mismos, obtención de certificados de obtentor de variedades vegetales, así como sus prórrogas, renovaciones, anotaciones de traspaso, cambios de nombre y/o domicilio; elaborar, tramitar y registrar contratos de licencia y licencias de cualesquiera clases; intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso ante cualquier juez, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía tales como: oposiciones al registro de marcas; acciones de caducidad, cancelación y nulidad; acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos y observaciones a solicitudes de patentes, diseños industriales, modelos de utilidad, en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones o medidas similares.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, nulidades, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores, dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeran conducentes al resguardo de mis (nuestros intereses), con todas las demás facultades legales necesarias.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, y la de sustituirlo en todo o en parte y revocar sustituciones. Asimismo nombro (amos) a: **RAMIRO CASTRO DUQUE y/o HECTOR GOMEZ MEJIA** domiciliado (s) en la Carrera 7 No. 16-56 Piso 9, mis (nuestros) apoderados en Colombia, con facultades para recibir notificaciones y designar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Otorgado y firmado en

Hoy de de 2000

Firma

Nombre Cargo

POWER OF ATTORNEYI (we) **SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.**

domiciled in Viale Shakespeare, 47 - 00144 Rome - ITALIA

Hereby appoint **RAMIRO CASTRO DUQUE** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, of Santafé de Bogotá, Colombia, my (our) true and lawful attorneys with special, ample and sufficient power to obtain from the Colombian administrative, judicial and police offices and authorities, in any instance, privileges of patents of invention, registration of trademarks, industrial designs and utility models; registration of commercial names and emblems, registration of copyright and contracts related thereto, certificate of obtainers of vegetables varieties, as well as extensions, renewals and recordal of assignments and changes of name and domicile related to the above; to prepare, prosecute and register licenses of any kind; to act as plaintiff or defendant in any instance or recourse, and before any judge, corporation, public official or authority in judicial, administrative and police actions, such as: oppositions to the registration of trademarks; caducity, cancellation and nullity actions; claim actions derived from the obtaining or exploitation of licenses, actions of unfair competition; penal demands; actions of indemnities for damages: claims or observations on patent applications, models, industrial designs and utility models, in the exercise of preventive measures: and in other actions or similar proceedings.

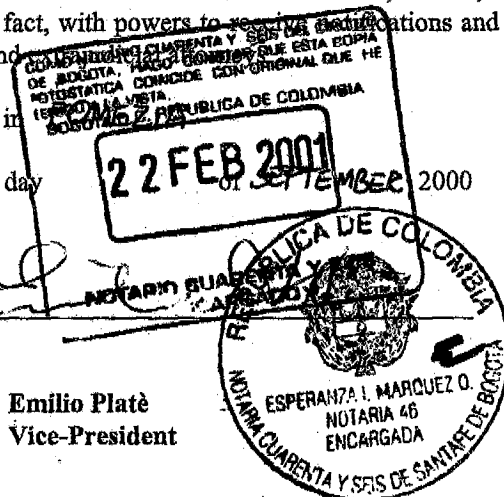
To that effect they hereby empowered to file applications, formulate descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, nullities, appeals and claims; to pay taxes, quotas and assessments prescribed by law, renounce or waive the rights granted or in the process of granting; to receive all kinds of documents and valuables, giving the respective release of receipt, and, in general, to take before said authorities the necessary steps to such effect, and any measures that they may deem pertinent to the safeguard of my (our) interest(s) with all the other necessary legal powers.

This power includes the faculty to ratify or confirm, desist, settle and compromise on my (our) behalf, and to substitute this power in whole or in part and to revoke substitutions. At the same time I (we) hereby appoint **RAMIRO CASTRO DUQUE** and/or **HECTOR GOMEZ MEJIA**, domiciled in Carrera 7 No. 16-56, Piso 9, my (our) attorney(s) in fact, with powers to receive notifications and to designate judicial and

Granted and signed in

This 25th day of FEBRUARY 2000

Signature

Name
TitleEmilio Platé
Vice-President

AUTENTICA DI FIRMA

L'anno duemila, il giorno venticinque del mese di settembre in Pomezia, nel mio studio, sito come appresso.

25 settembre 2000

Certifico io sottoscritto Dott. ANDREA LORUSSO CAPUTI, Notaio in Pomezia, con studio in Via Roma n.84, iscritto nel Ruolo dei Distretti Notarili di Roma, Velletri e Civitavecchia, omessa l'assistenza dei testimoni per espressa rinuncia del comparente e col mio consenso che il signor:

- Dott. EMILIO PLATE', nato a Piacenza il 22 marzo 1937 e domiciliato per la carica in Roma, ove appresso quale Vice Presidente Operativo della "SIGMA TAU - INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.", con sede in Roma, Viale Shakespeare n.47, della cui identità personale e qualifica, io Notaio sono certo, ha firmato la scrittura privata che precede.



Ferdinando Correa

PROCURA DELLA REPUBBLICA
presso il Tribunale di Roma

(art. 15 Legge 4 ottobre 1989 n. 15)

N. 1856

VISTO per la LEGALIZZAZIONE

della firma del Sig. *Lorusso Caputi Andrea*

nella qualità di *Notario*

Roma, il 13 OTT 2000

IL FUNZIONARIO MILITARE ALLA LEGALIZZAZIONE

Dott. Ferdinando Corrado

13 OTT. 2000

N° 1991

EL CONSUL GENERAL DE COLOMBIA
EN ROMA-ITALIA

Prevía la confrontación correspondiente DA
FE de que la firma que aparece en este
documento es similar a la REGISTRADA
aquí por FERDINANDO CORREA-
LE-PROC. ROMA.

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2001 FEB 13 A 8:78

Jefe de Legación
SANTAFE DE BOGOTÁ

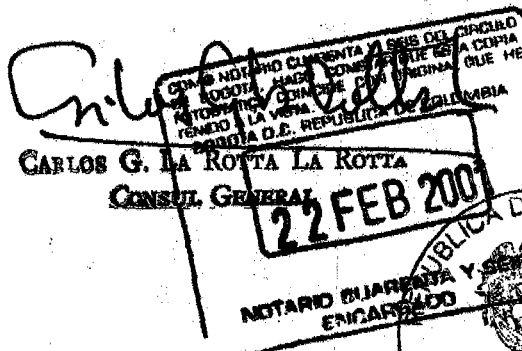


MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

106672

Carlos La Rotta
COPIA FIRMADA APARECE EN EL
BOLETIN DE NOTICIAS
LAS FIRMAS INDICADAS

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE
Y DERECHOS FONDO ROTATORIO: 415



di settembre

153
153

CERTIFICADO NOTARIAL (SOCIEDAD)

Hoy de de
personalmente compareció ante mi

a quien conozco, y de quien me consta que firmó el anterior
documento, debidamente juramentado declaró
y dijo que él es

de

Sociedad legalmente constituida para un periodo de duración que
aún no ha terminado; que el declarante está autorizado por dicha
compañía para conferir este poder; que el sello estampado por él al
pie de tal poder, en nombre y en representación de la expresada
compañía, es el sello oficial de ella; y que el objeto para el cual se
confiere este instrumento está comprendido dentro del de la
sociedad.

El suscrito Notario hace constar que tuvo a la vista las pruebas de la
existencia de la sociedad.

Estado de
con fecha:

y que quien confiere el presente poder es su representante.

Notario Público (sello)

CERTIFICADO NOTARIAL
PERSONA NATURAL

Hoy de de, compareció (eron) ante mí

a quien (es) conozco y me consta que es(son) la(s) persona(s)
firmante(s) del documento que precede y quien(es) declara(n) que
otorgan el mismo para los fines y propósitos que en él se expresan.

Notario Público (sello)

LEGALIZACION ANTE CONSUL COLOMBIANO ES REQUERIDA.

NOTARIAL CERTIFICATE (CORPORATION)

On this 25th day of September of 2000
personally appeared before me ANDREA LORENZO CARPILI
IL DON-EMILIO PLATEI

to me known, and known to me to be the person who signed the
foregoing instrument who being by me duly sworn did depose and
say that he (she) is the VICE PRESIDENTE OPERATIVO

of "Sigmas del Instituto Farmaceutico
Riviera spa

which is legally constituted for a term not yet expired, that
deponent is authorized by said Company to confer this Power of
Attorney: that the seal affixed hereunto by the deponent in the
name and on behalf of said Corporation is the corporate seal
thereof; and that the purpose for which this instrument is granted is
included within the corporate purpose of company.

The undersigned Notary Public attests that he has seen the
documents that prove the existence of the company.

State of ITALY
under date of 25 September 2000

and that he (she) who grants the present power of attorney is its
Representative.

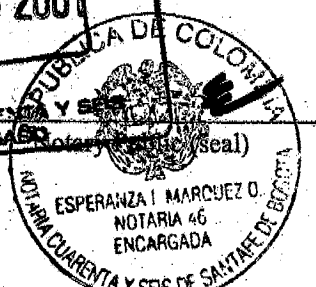
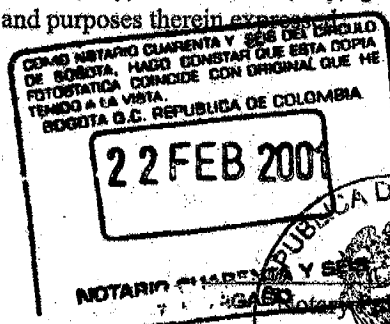


Public Notary (Seal)

NOTARIAL CERTIFICATE
NATURAL PERSON

On this day of
personally appeared before me

who is (are) known to me and who I attest executed the foregoing
document and he (they) declared he (they) grant(s) the document
for the uses and purposes therein expressed.



LEGALIZATION BEFORE COLOMBIAN CONSUL IS REQUIRED

7

PROCURA DELLA REPUBBLICA

Procedimento di Roma
(art. 15 Legge 100/1990 1989 n. 15)

N. 56

VISTO per la LEGALIZZAZIONE

della firma del Sig. Larussi Caputi Andrea
nella qualità di Notario

Roma, il 19 GEN. 2001

A FUNZIONARIO ASSIGNATO ALLA LEGALIZZAZIONE

Don Feliciano



25 GEN. 2001

N° 88

EL CONSUL GENERAL DE COLOMBIA
EN ROMA-ITALIA

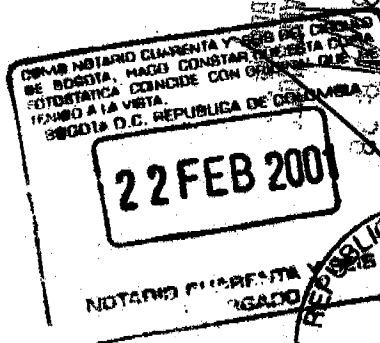
Previo la confrontación correspondiente DA
FE de que la firma que aparece en este
documento es similar a la REGISTRADA
aquí por Ferdinando

Comesale F. Provenzano

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
106673
CIVIL FIRMADA APARECE EN EL
DOCUMENTO REGISTRADO EN
LAS FIRMAS INICIALES

MARTHA CECILIA RAMIREZ P.
CÓNSUL

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL ITT
2001 FEB 13
JEFE DE LEGACIÓN
EMBAJADA DE COLOMBIA



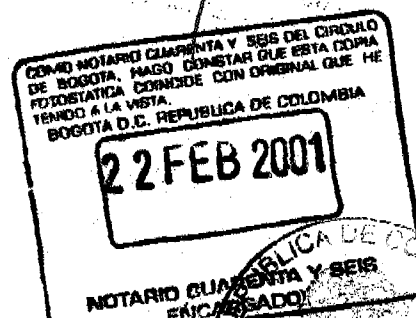
PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE
Y DERECHOS FONDO ROTATORIO

156
154

TRADUCCIÓN OFICIAL DE UN PODER OTORGADO POR LA FIRMA SIGMA-TAU INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A., con domicilio en Viale Shakespeare 47 - 00144 Roma ITALIA-, a los señores RAMIRO CASTRO DUQUE y/o HECTOR GOMEZ MEJIA de Santafé de Bogotá, Colombia.

El texto del PODER se encuentra en idioma español e inglés. A continuación se traducen los sellos de legalización, que se encuentran en el reverso de la hoja, y cuyo texto es el siguiente :

- Sello del NOTARIO de POMEZIA ANDREA LORUSSO CAPUTI, inscrito en el Circulo de Distritos Notariales de Roma, Velletri y Civitavecchia, quien omitiendo la asistencia de testigos por expresa renuncia del compareciente y con mi consentimiento, certifico acerca de la identidad personal y cargo del Dr. EMILIO PLATÉ, nacido en Piacenza el 22 de marzo de 1937 y con domicilio en Roma en razón de su cargo, quien obra como Vicepresidente Operativo de SIGMA TAU - INDUSTRIE FARMACEUTICHE RIUNITE S.p.A.;
- Sello de la PROCURADURIA DE LA REPUBLICA ante el Tribunal de Roma, (Art. 15 Ley 4 enero 1968 n. 15), No. 1856, con el cual se legaliza la firma de LORUSSO CAPUTI ANDREA, Notario en Roma. Se firma el 6 de Octubre de 2000 por el Funcionario Facultado para la Legalización DR. FERDINANDO CORREALE;
- Sello del CONSULADO DE COLOMBIA EN ROMA, No. 1991 del 13 Octubre de 2000, con el cual se legaliza la firma del Funcionario de la PROCURADURIA DE ROMA FERDINANDO CORREALE. Firma el Cónsul General CARLOS G. LA ROTTA;
- Sello del MINSITERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE COLOMBIA, N. 106672 del 13.02.2001, con el cual se legaliza la firma del Funcionario del Consulado de Colombia en Roma.



237
155

- Sello de la PROCURADURIA DE LA REPUBLICA ante el Tribunal de Roma, (Art. 15 Ley 4 enero 1968 n. 15), No. 56, con el cual se legaliza la firma de LORUSSO CAPUTI ANDREA, Notario en Roma. Se firma el 19 de Enero de 2001 por el Funcionario Facultado para la Legalización DR. FERDINANDO CORREALE;
- Sello del CONSULADO DE COLOMBIA EN ROMA, No. 88 del 25 de Enero de 2001, con el cual se legaliza la firma del Funcionario de la PROCURADURIA DE ROMA FERDINANDO CORREALE. Firma el Cónsul MARTHA CECILIA RAMIREZ;
- Sello del MINSITERIO DE RELACIONES EXTERIORES DE COLOMBIA, N. 106673 del 13.02.2001, con el cual se legaliza la firma del Funcionario del Consulado de Colombia en Roma.

Ferdinando Correale
FERNANDO CORREALE
FERNANDO CORREALE
FERNANDO CORREALE

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
00606
Ferdinando Correale
CIVILIZACION EN EL
FIRMAMENTO DESEMPERA
LAS FUNCIONES INDICADAS

DEMANDA NOTARIO CUARENTA Y SEIS DEL DICIEMBRE DE BOGOTA, HAYO CONSTAR QUE ESTA COPIA FOTOSTATICA COINCIDE CON ORIGINAL QUE HE TENIDO A LA VISTA.
BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
22 FEB 2001
NOTARIO CUARENTA Y SEIS DEL DICIEMBRE DE BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
ENCARGADO

REPUBLICA DE COLOMBIA
ESPERANZA I. MARQUEZ C.
NOTARIA 45
ENCARGADA
NOTARIA CUARENTA Y SEIS DEL DICIEMBRE DE BOGOTA D.C. REPUBLICA DE COLOMBIA
ENCARGADA

2do. EXAMEN DE FORMA PATENTE DE INVENCION

Folio 158

Radicación no 00 - 76603

Concepto Técnico no 1243

Clasificación Internacional de Patentes A61K 31/198

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 38 de la Decisión 486 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI [☒] NO [☐] Contiene un resumen de la invención (Art.26-e).
- SI [☒] NO [☐] Contiene el título o nombre de la invención (Art.27-d).
- SI [☒] NO [☐] Contiene la descripción de la invención (Art.26-b).
- SI [☐] NO [☐] NO ES APLICABLE [☒] Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art.26-d)
- SI [☒] NO [☐] Contiene una o más reivindicaciones. (Art.26-c).
- SI [☐] NO [☒] NO ES APLICABLE [☐] Han sido desarrollados los productos y/o procedimientos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen. (Art. 26- h).
- SI [☐] NO [☐] NO ES APLICABLE [☒] Los productos y/o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afroamericanas, o locales de los países miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes.(Art.26-i).
- SI [☒] NO [☐] La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico. (Art.26-J).
- SI [☒] NO [☐] La prioridad coincide con la materia reivindicada.
- SI [☒] NO [☐] **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI [☒] NO [☐] ver hoja(s) anexa(s)

EXAMINADOR TÉCNICO
202046

Bogotá D. C., 6 de Septiembre de 2002

Radicación no 00 - 76603

Concepto Técnico no 1243

Observaciones.

1. Se anexa extracto para publicación, folio 41 y tarjeta para archivo temático, folio 40.
2. No se anexa fotocopia del arte final en tamaño 12 x 12 al extracto de publicación, por corresponder la solicitud al uso de una solución con fines médicos y a su composición.
3. Por idénticas razones se considera que no aplica la presentación de dibujos en la solicitud.

EXAMINADOR TÉCNICO
202046

Bogotá D. C., 6 de Septiembre de 2002

Folio 160

2020
Bogotá DC

Doctor
RAMIRO CASTRO DUQUE
Apoderado

REFERENCIA:	Radicación No.	00-76603
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	2197
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

No obstante lo anterior, no se tendrá en cuenta la prioridad invocada ya que fue presentada en forma extemporánea.

Cúmplase
Dado en Bogotá DC, a los


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

202046

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia