



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 278 196**

(51) Int. Cl.:

A61K 35/74 (2006.01)

A61K 38/48 (2006.01)

A61P 15/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **03762011 .9**

(86) Fecha de presentación : **24.06.2003**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1515735**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **23.03.2005**

(54) Título: **Toxinas botulínicas para tratar el priapismo.**

(30) Prioridad: **26.06.2002 US 183221**

(73) Titular/es: **ALLERGAN, Inc.
2525 Dupont Drive
Irvine, California 92612, US**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2007

(72) Inventor/es: **Naumann, Markus, K.**

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2007

(74) Agente: **Arias Sanz, Juan**

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

DESCRIPCIÓN

Toxinas botulínicas para tratar el priapismo.

5 Antecedentes

La presente invención se refiere al tratamiento del priapismo. La presente invención se refiere en particular al uso de una neurotoxina en la fabricación de un medicamento para tratar el priapismo.

10 Priapismo

El priapismo es una erección del pene prolongada, persistente (normalmente durante cuatro horas o más) y a menudo dolorosa que no está asociada con un estímulo sexual. Normalmente, sólo afecta a los cuerpos cavernosos del pene, mientras que los cuerpos esponjosos del glande del pene permanecen flácidos. Se han descrito formas de priapismo de bajo flujo sanguíneo y de alto flujo sanguíneo. El nombre de priapismo deriva de Priapo, el hijo de Afrodita, la antigua diosa griega del amor. Priapo era el dios griego de la fertilidad y se muestra en estatuas, mosaico y cerámicas de la época con enormes genitales y una erección aparentemente perpetua.

La causa más común del priapismo es un efecto adverso de ciertos compuestos farmacológicos, tales como fármacos neurolépticos (es decir, torazina o clorpromazina) y antihipertensores (es decir, prazosin). De forma destacable, aproximadamente el 42 por ciento de todos los adultos con enfermedades de células falciformes y el 64 por ciento de todos los niños con enfermedades de células falciformes desarrollan priapismo. También se ha observado priapismo asociado con: el uso de inyecciones intracavernosas de medicamentos para tratar la impotencia (es decir, papaverina, fentolamina y prostaglandina E1), leucemia; mieloma múltiple; enfermedad de Fabry; neumonía por micoplasma; amiloidosis; intoxicación por monóxido de carbono; malaria; mordeduras de araña; uso de citalopram (un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina); hidralicina, metoclopramida; omeprazol, hidroxizina; prazosin (especialmente cuando se usa en pacientes con insuficiencia renal); tamoxifeno; testosterona; bloqueantes de canales de calcio; anticoagulantes (tanto inducida por warfarina como durante infusiones de heparina); cocaína; éxtasis; abuso del alcohol; androstenediona (para fines relacionados con el atletismo); marihuana y ciertos cánceres que se infiltran en el pene e impiden el flujo sanguíneo de salida.

Es sabido que el priapismo en la niñez tiene lugar en asociación con la leucemia (leucocitos que ocluyen el flujo de salida de la sangre del pene), enfermedades de células falciformes, traumatismo del pene o del perineo y lesión de la médula espinal. En raras ocasiones se describe priapismo del clítoris (priapismo femenino). Véase, por ejemplo, Brodie-Meijer C.C. y col., *Nefazodone-induced clitoral priapism*, Int Clin Psychopharmacol 1999 julio; 14(4):257-8.

El priapismo puede darse como resultado de una alteración de los mecanismos reguladores normales que inician y mantienen la flacidez del pene. De este modo, se cree que la activación de los nervios autónomos postganglionares (colinérgicos) parasimpáticos puede inducir la erección del pene, mientras que la inervación simpática (adrenérgica) del pene inducen la disminución de la hinchazón del pene y el final de la erección.

De este modo, la relajación parasimpática del músculo liso del pene (mediada posiblemente por la disminución del calcio citóslico inducida por óxido nítrico) causa una erección permitiendo que la sangre fluya dentro de las estructuras penianas y aumentando la presión cavernosa del pene. La contracción del músculo liso peniano con inervación simpática (adrenérgica) da lugar a la disminución de la hinchazón (un pene flácido) debido a un aumento del drenaje desde el pene a través de los canales venosos de salida, descendiendo de este modo la presión intracavernosa. Compton M.T. y col., *Priapism associated with conventional and atypical medications: a review*, J Clin Psychiatry 2001; 62:362-366; Rochat M.C., *Priapism: a review*. Theriogenology 2001; 56:713-722; Wagner G. y col., *Pathophysiology and diagnosis of male erectile dysfunction*, BJU International (2001), 88 (Suplemento 3), 3-10; Lue TF. Erectile Dysfunction, New Engl J Med 2001; 342:1802-1813.

El priapismo con una aparición durante 4-6 horas puede tratarse algunas veces con un descongestionante (es decir, pseudoefedrina o terbutalina) que actúa disminuyendo el flujo sanguíneo en el pene. Si la erección no es sensible, puede usarse la aspiración para retirar del pene aproximadamente de 50 a 150 cc de sangre mediante una pequeña aguja colocada directamente dentro del cuerpo del pene, permitiendo de este modo la disminución de la hinchazón.

Si reaparece la erección, pueden instilarse en el pene ciertos fármacos de tipo vasoactivo, incluyendo epinefrina, que causan la contracción de los vasos sanguíneos y previene el priapismo. Si esto no funciona, puede probarse un agonista alfa adrenérgico (por ejemplo, bitartrato de metaraminol, fenilefrina, metaraminol). Los agonistas alfa contrarrestan la relajación del músculo liso del pene que causa la erección. Sin embargo, se sabe que un agonista alfa puede causar una hipertensión sistémica significativa así como una taquicardia ventricular. Otra opción de tratamiento es un procedimiento de derivación que permite a la sangre drenar desde el pene inundado.

Desafortunadamente, las terapias actuales para el priapismo, que incluye fármacos, aspiración y derivación, tienen inconvenientes y desventajas como la recurrencia del priapismo, el sangrado de los agujeros situados en el pene como parte de un procedimiento de derivación; infecciones postquirúrgicas que incluyen la infección del cuerpo cavernoso y la infección de la piel que rodea al cuerpo cavernoso; la necrosis del pene; daño de la uretra; agujeros entre la uretra y la piel; la pérdida del pene y la muerte.

ES 2 278 196 T3

La pérdida del pene puede darse debido a una infección postquirúrgica o a la necrosis peniana debido a la duración de priapismo antes de que se inicie un tratamiento eficaz. El priapismo ha acabado en muerte por suicidio así como debido a un coágulo sanguíneo formado en el pene tras la interrupción de un proceso de derivación que causa un embolismo pulmonar.

5

Toxina botulínica

La bacteria anaeróbica gram positiva *Clostridium botulinum* produce una neurotoxina polipeptídica potente, la toxina botulínica, que causa una enfermedad neuroparalizante en humanos y en animales denominada botulismo.

10 *Clostridium botulinum* y sus esporas se encuentran normalmente en la tierra y la bacteria puede crecer en recipientes de alimentos esterilizados y cerrados herméticamente de forma inadecuada de fábricas de conservas caseras, que son la causa de muchos de los casos de botulismo. Los efectos del botulismo normalmente aparecen entre las 18 y las 36 horas después de comer el alimento infectado con un cultivo o con esporas de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica aparentemente puede atravesar el revestimiento del intestino sin atenuarse y envenenar a las neuronas periféricas 15 motoras. Los síntomas de la intoxicación por toxina botulínica pueden progresar desde dificultad para caminar, para tragar y hablar hasta parálisis de los músculos respiratorios y la muerte.

La toxina botulínica de tipo A es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. La DL₅₀ en ratones es de aproximadamente 50 picogramos de una toxina botulínica de tipo A (complejo de la neurotoxina purificado) 20 de la cepa Hall de *Clostridium botulinum*. De forma interesante, en base molar, la toxina botulínica de tipo A es 1.800 millones de veces más letal que la toxina diftérica, 600 millones más letal que el cianuro sódico, 30 millones de veces más letal que la cobrotoxina y 12 millones de veces más letal que el cólera. Singh, *Critical Aspects of Bacterial Protein Toxins*, páginas 63-84 (capítulo 4) de *Natural Toxins II*, editado por B.R. Singh y col., Plenum Press, Nueva York (1976) (en el que la DL₅₀, indicada como 0,3 ng de toxina botulínica de tipo A equivalente a 1 U, se 25 corrige por el hecho de que aproximadamente 0,05 ng de BOTOX® equivalen a 1 unidad). Una unidad (U) de toxina botulínica se define como la DL₅₀ tras la inyección intraperitoneal en ratones hembras Swiss Webster de 18-20 gramos de peso. En otras palabras, una unidad de toxina botulínica es la cantidad de toxina botulínica que mata al 50% de un grupo de ratones hembras Swiss Webster. Se han caracterizado siete neurotoxinas botulínicas que generalmente son 30 distintas desde el punto de vista inmunológico, siendo estas respectivamente los serotipos A, B, C₁, D, E, F y G de neurotoxina botulínica, cada una de las cuales se distingue mediante la neutralización con anticuerpos específicos de tipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían en las especies animales a las que afectan y en la gravedad y duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo A es 500 veces más potente, medida mediante la tasa de parálisis producida en la rata, que la toxina botulínica de tipo B. Adicionalmente, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo B no es tóxica en primates a una dosis de 480 35 U/kg, que es aproximadamente 12 veces la DL₅₀ en primates para la toxina botulínica de tipo A. Aparentemente, las toxinas botulínicas se unen con elevada afinidad a neuronas motoras colinérgicas, se translocan al interior de la neurona y bloquean la liberación presináptica de acetilcolina.

Las toxinas botulínicas se han usado en ámbitos clínicos para el tratamiento de trastornos neuromusculares 40 caracterizados por músculos esqueléticos hiperactivos. El uso de la toxina botulínica de tipo A para el tratamiento del blefarospasmo esencial, el estrabismo y el espasmo hemifacial en pacientes con más de doce años fue aprobado por la Food and Drug Administration de EE.UU. en 1989. En el año 2000, la FDA aprobó preparaciones comerciales de los serotipos de la toxina botulínica, tipo A y de tipo B, para el tratamiento de la distonía cervical y en el 2002 la FDA 45 aprobó una toxina botulínica de tipo A para el tratamiento cosmético de ciertas arrugas faciales hipercinéticas (glaberales). Los efectos clínicos de la toxina botulínica de tipo A intramuscular periférica normalmente se ven durante la semana después de la inyección y, algunas veces, a las pocas horas. La duración típica del alivio sintomático (es decir, parálisis del músculo flácido) tras una única inyección intramuscular de la toxina botulínica de tipo A puede ser de 50 aproximadamente tres meses, aunque se ha informado de que pueden permanecer durante varios años en algunos casos en los que los efectos de la toxina botulínica inducen la desnervación de una glándula, tal como la glándula salivar.

Aunque aparentemente todos los serotipos de toxinas botulínicas inhiben la liberación del neurotransmisor acetilcolina en las uniones neuromusculares, lo hacen afectando a diferentes proteínas neurosecretoras y/o escindiendo estas 55 proteínas en diferentes sitios. La toxina botulínica A es una cinc endopeptidasa que puede hidrolizar específicamente un enlace peptídico de la proteína intracelular asociada a vesículas, SNAP-25. La toxina botulínica de tipo E también escinde la proteína asociada a sinaptosomas de 25 kilodaltons (kD) (SNAP-25) pero, en comparación con la toxina botulínica de tipo A, se dirigen hacia diferentes secuencias de aminoácidos de esta proteína. Las toxinas botulínicas de tipos B, D, F y G actúan sobre proteína asociada a vesícula (VAMP, también denominadas sinaptobrevina) escindiendo cada serotipo la proteína en un sitio diferente. Finalmente, se ha demostrado que la toxina botulínica de tipo C1 escinde tanto la sintaxisina como la SNAP-25. Estas diferencias en el mecanismo de acción pueden afectar a la potencia 60 relativa y/o a la duración de la acción de los diversos serotipos de toxina botulínica.

Independientemente del serotipo, parece que el mecanismo molecular de la intoxicación por la toxina es similar e implica al menos tres pasos o etapas. En la primera etapa del procedimiento, la toxina se une a la membrana presináptica de la neurona diana a través de una interacción específica entre la cadena pesada (cadena H) y un receptor de la superficie celular; se piensa que el receptor es diferente para cada serotipo de toxina botulínica y para la toxina tetánica. El segmento del extremo carboxilo de la cadena H, el Hc, parece ser importante para el direccionamiento de la toxina hacia la superficie celular.

ES 2 278 196 T3

En la segunda etapa, la toxina atraviesa la membrana plasmática de la célula intoxicada. La célula primero envuelve la toxina a través de endocitosis mediada por receptor y se forma un endosoma que contiene la toxina.

A continuación, la toxina escapa del endosoma al citoplasma de la célula. Se piensa que esta última etapa está mediada por el segmento amino terminal de la cadena H, H_N , que desencadena en la toxina un cambio conformacional en respuesta a un pH de aproximadamente 5,5 o inferior. Es sabido que los endosomas poseen una bomba de protones que disminuye el pH intraendósomico. El cambio conformacional expone los restos hidrófobos de la toxina, lo que permite a la toxina embeberse en la membrana endosómica. A continuación, la toxina se transloca a través de la membrana endosómica al citosol.

La última etapa del mecanismo de la actividad de la toxina botulínica supone la reducción del puente disulfuro que une las cadenas H y L. La actividad tóxica completa de las toxinas botulínica y tetánica está contenida en la cadena L de la holotoxina; la cadena L es una cinc (Zn^{++}) endopeptidasa que escinde selectivamente proteínas esenciales para el reconocimiento y anclaje de vesículas que contienen neurotransmisores a la superficie citoplásica de la membrana plasmática y para la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La neurotoxina tetánica y las toxinas botulínicas B, D, F y G causan la degradación de la sinaptobrevina (también denominada proteína de membrana asociada a vesículas (VAMP)), una proteína de la membrana del sinaptosoma. La mayor parte de la VAMP presente en la superficie citosólica de la vesícula sináptica se elimina como resultado de cualquiera de estos acontecimientos de escisión. Cada toxina escinde específicamente un enlace diferente.

El peso molecular de las moléculas proteicas de las toxinas botulínicas, para los siete serotipos de toxina botulínica conocidos, es de aproximadamente 150 kD. De forma interesante, las toxinas botulínicas son liberadas por la bacteria de *Clostridium* como complejos que comprenden la molécula proteica de la toxina botulínica de 150 kD junto con proteínas no tóxicas asociadas. De este modo, la bacteria de *Clostridium* puede producir el complejo de la toxina botulínica de tipo A como formas de 900 kD, 500 kD y 300 kD. Aparentemente, las toxinas botulínicas de tipo B y C₁ se producen sólo como complejos de 500 kD. La toxina botulínica de tipo D se produce tanto como complejos de 300 kD como de 500 kD. Finalmente, las toxinas botulínicas de tipos E y F se producen solo como complejos de aproximadamente 300 kD. Se cree que los complejos (es decir, de peso molecular mayor de aproximadamente 150 kD) contienen una proteína hemaglutinina no toxina y una no toxina y una proteína no hemaglutinina no tóxica. Estas dos proteínas no tóxinas (que junto con la molécula de toxina botulínica puede comprender el complejo neurotóxico relevante) pueden actuar proporcionando estabilidad frente a la desnaturización de la molécula de la toxina botulínica y protección frente a los ácidos del tracto digestivo cuando se ingiere la toxina. Adicionalmente, es posible que los complejos más grandes de toxina botulínica (mayores de aproximadamente 150 kD de peso molecular) puedan dar lugar a una tasa de difusión más lenta de la toxina botulínica desde el lugar de inyección intramuscular de un complejo de toxina botulínica. Los complejos de toxina pueden disociarse en la proteína tóxica y en las proteínas hemaglutininas tratando el complejo con eritrocitos a pH 7,3. La proteína toxina tiene una marcada inestabilidad tras eliminar la proteína hemaglutinina.

Todos los serotipos de toxina botulínica son producidos por la bacteria *Clostridium botulinum* como proteínas de cadena sencilla inactiva que pueden escindirse o mellarse mediante proteasas para convertirse en neuroactivas. Las cepas bacterianas que producen toxinas botulínicas de setorípos A y G poseen proteasas endógenas y los serotipos A y G pueden, por tanto, recuperarse de los cultivos bacterianos predominantemente en su forma activa. Por el contrario, las toxinas botulínicas de serotipos C₁, D y E son sintetizadas por cepas no proteolíticas y por tanto, normalmente están inactivas cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F son producidos tanto por cepas proteolíticas como no proteolíticas y, por tanto, puede recuperarse en la forma activa o inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen por ejemplo, la toxina botulínica de serotipo de tipo B sólo escinden una porción de la toxina producida. La proporción exacta de moléculas melladas con respecto a no melladas depende de la longitud del periodo de incubación y de la temperatura del cultivo. Por tanto, probablemente un cierto porcentaje de cualquier preparación, por ejemplo, de la toxina botulínica de tipo B, está inactivo, que posiblemente es responsable de una menor potencia de la toxina botulínica de tipo B en comparación con la toxina botulínica de tipo A. La presencia de moléculas de toxina botulínica inactivas en una preparación clínica contribuirá a la carga proteica total de la preparación, que se ha relacionado con un aumento de la antigenicidad sin que contribuya a su eficacia clínica.

Estudios *in vitro* han indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por el catión potasio tanto de la acetilcolina como de la norepinefrina a partir de cultivos celulares primarios de tejido del tronco cerebral. Adicionalmente, se ha indicado que la toxina botulínica inhibe la liberación provocada tanto de glicina como de glutamina en cultivos primario de neuronas de la médula espinal y que en las preparaciones de sinaptosomas cerebrales la toxina botulínica inhibe la liberación de cada uno de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, norepinefrina, CGRP y glutamato.

Puede producirse toxina botulínica de tipo A cristalina de alta calidad a partir de la cepa Hall A de *Clostridium botulinum* con las características de $\geq 3 \times 10^7$ U/mg, una relación A_{260}/A_{278} de menos de 0,60 y un patrón diferencial de bandeo en electroforesis en gel. Puede usarse el conocido procedimiento de Shantz para obtener toxina botulínica de tipo A cristalina, como se muestra en Shantz, E.J., y col., *Properties and use of Botulinum toxin and Other Microbial Neurotoxins in Medicine*, Microbiol Rev. 56: 80-99 (1992). Generalmente, el complejo de la toxina botulínica de tipo A puede aislar y purificarse a partir de una fermentación anaerobia mediante el cultivo de *Clostridium botulinum* de tipo A en un medio adecuado. La toxina bruta puede recogerse mediante precipitación con ácido sulfúrico y concentrarse por ultramicrofiltración. La purificación puede realizarse disolviendo el precipitado ácido en cloruro cálcico. A

ES 2 278 196 T3

- continuación, la toxina puede precipitarse con etanol frio. El precipitado puede disolverse en tampón fosfato sódico y centrifugarse. Tras el secado, a continuación pueden obtenerse complejos de toxina botulínica de tipo A cristalina de 900 kD con una potencia específica, expresada como DL_{50} , de 3×10^7 U/mg o mayor. Este procedimiento conocido también puede usarse, tras la separación de las proteínas no toxinas, para obtener toxinas botulínicas puras, tal como por ejemplo: toxina botulínica de tipo A purificada con un peso molecular de aproximadamente 150 kD con una potencia específica (DL_{50}) de $1-2 \times 10^8$ U/mg o mayor; toxina botulínica de tipo B purificada con un peso molecular de aproximadamente 156 kD con una potencia específica (DL_{50}) de $1-2 \times 10^8$ U/mg o mayor y toxina botulínica de tipo F purificada con un peso molecular aproximado de 155 kD y una potencia específica (LD_{50}) de $1-2 \times 10^7$ U/mg o mayor.
- 5 Pueden obtenerse toxinas y complejos de toxinas ya preparados y purificados para preparar formulaciones farmacéuticas de List Biological Laboratories, Inc., Campbell, California; el Centro de Microbiología Aplicada e Investigación, Porton Down, Inglaterra; de Wako (Osaka, Japón) así como de Sigma Chemicals de St. Louis, Missouri.
- 10 Se ha indicado que se ha usado toxina botulínica en marcos clínicos según sigue:
- 15 (1) aproximadamente 75-125 unidades de BOTOX[®]¹ por inyección intramuscular (en múltiples músculos) para tratar la distonía cervical;
- 20 (2) 5-10 unidades de BOTOX[®] por inyección intramuscular para tratar líneas glabiales (arrugas en la frente) (5 unidades inyectadas por vía intramuscular en el músculo piramidal de la nariz y 10 unidades inyectadas por vía intramuscular en el músculo superciliar);
- 25 (3) aproximadamente 30-80 unidades de BOTOX[®] para tratar el estreñimiento mediante inyección intraesfínter del músculo puborrectal;
- 30 (4) aproximadamente 1-5 unidades por músculo de BOTOX[®] inyectadas por vía intramuscular para tratar el blefarospasmo inyectado en el músculo pretarsal orbicular lateral del párpado superior y el pretarsal orbicular lateral del párpado inferior;
- 35 (5) para tratar el estrabismo, se han inyectado por vía intramuscular aproximadamente de 1-5 unidades de BOTOX[®] en los músculos extraoculares, variando la cantidad inyectada basándose tanto en el tamaño del músculo que se va a inyecta como en el grado de parálisis muscular deseado (es decir, cantidad de corrección de dioptrías deseada);
- (6) para tratar la espasticidad de las extremidades superiores tras un ictus mediante inyecciones por vía intramuscular de BOTOX[®] en cinco diferentes músculos flexores de las extremidades superiores, como sigue:
- 40 (a) flexor profundo de los dedos: de 7,5 U a 30 U
- (b) flexor superficial de los dedos: de 7,5 U a 30 U
- (c) flexor cubital del carpo: de 10 U a 40 U
- 45 (d) flexor radial del carpo: de 15 U a 60 U
- (e) bíceps braquial: 50 U a 200 U. Cada uno de los cinco músculos indicados se inyectaba en la misma sesión de tratamiento de modo que el paciente recibía de 90 U a 360 de BOTOX[®] en el músculo flexor de las extremidades superiores mediante inyección por vía intramuscular en cada sesión de tratamiento;
- 50 (7) para tratar las migrañas, la inyección pericraneal (inyectada simétricamente en los músculos glabelar, frontal y temporal) de 25 U de BOTOX[®] ha mostrado un beneficio significativo como tratamiento profiláctico de las migrañas en comparación con el vehículo según se mide mediante el descenso de la frecuencia de migrañas, la gravedad máxima, asociada con vómitos y medicación aguda usada durante el periodo de tres meses que sigue a la inyección de 25 U.
- 55 Adicionalmente, la toxina botulínica por vía intramuscular se ha usado en el tratamiento de los temblores en pacientes con enfermedad de Parkinson, aunque se ha indicado que los resultados no eran espectaculares. Marjama-Jyons, J. y col., *Tremor-Predominant Parkinson's Disease*, Drugs & Aging 16(4); 273-278:2000.
- 60 Es conocido el tratamiento de ciertos trastornos gastrointestinales y del músculo liso con una toxina botulínica. Véanse las patentes de EE.UU. 5,427,291 y 5,674,205 (Pasricha). Adicionalmente, se conoce la inyección transuretral de una toxina botulínica en el esfínter de la vejiga para tratar un trastorno urinario (véase, por ejemplo, Dykstra, D.D. y col, *Treatment of detrusor-sphincter dyssynergia with botulinum A toxin: A double-blind study*, Arch Phys Med Rehabil 1990 ene; 71:24-6), así como la inyección de toxina botulínica en la próstata para tratar la hiperplasia prostática. Véase por ejemplo, la patente de EE.UU. 6,365,164 (Schmidt).
- 65 La patente de EE.UU. 5,766,605 (Sanders) propone el tratamiento de diversos trastornos anatómicos, tales como hipersalivación y rinitis, con una toxina botulínica.

¹ Disponible de Allergan, Inc., de Irvine, California con la marca comercial BOTOX[®]

ES 2 278 196 T3

Además, en el documento WO 95/17904 (PCT/US94/14717) (Aoki) se describen diversas enfermedades, tales como hiperhidrosis y cefalea, que pueden tratarse con una toxina botulínica. El documento EP 0 605 501 B1 (Graham) describe el tratamiento de la parálisis cerebral con una toxina botulínica y la patente de EE.UU. 6,063,768 (First) describe el tratamiento de la inflamación neurogénica con una toxina botulínica.

5 Se ha informado de la disfunción eréctil como un síntoma de botulismo. Jenzer G. y col. *Autonomic dysfunction in botulism B: a clinical report*, Neurology 1975; 25:150-153; Naumann M. y col., *Pure autonomic dysfunction in botulism type B*, Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology junio 2002 (suplemento 2); 365 (resumen 89 del R31). Este puede ser el resultado de la toxina botulínica en circulación presente en un paciente con botulismo
10 que actúa bloqueando la liberación de acetilcolina de las terminaciones nerviosas colinérgicas parasimpáticos en los cuerpos cavernosos del pene. Esto podría causar una inhibición de la relajación del músculo liso del pene y, por tanto, una reducción del flujo sanguíneo dentro de las estructuras penianas y, por tanto, una flacidez del pene. Por el contrario, se ha especulado que puede usarse una toxina botulínica para provocar una erección del pene. Jones D. *High performance*, Nature 1989; 3:348.

15 Es sabido que la toxina botulínica de tipo A puede ser eficaz hasta los 12 meses (*European J. Neurology* 6 (Suplemento 4): S111-S1150:1999) y en algunas circunstancias hasta los 27 meses. *The Laryngoscope* 109:1344-1346:1999. Sin embargo, la duración normal de una inyección intramuscular de BOTOX® normalmente es de 3 a 4 meses.

20 El éxito de la toxina botulínica de tipo A en el tratamiento de diversas afecciones clínicas ha llevado al interés por otros serotipos de toxina botulínica. Adicionalmente, se ha usado toxina botulínica pura para tratar a seres humanos. Véase por ejemplo, Kohl A y col., *Comparison of the effect of botulinum toxin A (Botox(R)) with the highly-purified neurotoxin (NT 201) in the extensor digitorum brevis muscle test*, *Moo Discord* 2000; 15 (Suplemento 3):165. Por tanto, puede prepararse una composición farmacéutica usando una toxina botulínica pura.

25 La molécula de toxina botulínica (aproximadamente 150 kDa) así como los complejos de toxina botulínica (aproximadamente 300-900 kDa), tales como los complejos de toxina de tipo A, también son extremadamente susceptible de desnaturalización debido a la desnaturalización superficial, al calor y a condiciones alcalinas. La toxina inactivada forma proteínas toxoides que puede ser inmunogénicas. Los anticuerpos resultantes pueden convertir al paciente en refractario a la inyección de la toxina.
30

Una toxina botulínica disponible en el mercado contenida en la composición farmacéutica, se vende con el nombre comercial de BOTOX® (disponible de Allergan, Inc. de Irvine, California). BOTOX® está compuesto de un complejo de toxina botulínica de tipo A purificada, albúmina y cloruro sódico envasados en forma esterilizada y liofilizada.
35 La toxina botulínica de tipo A se obtiene de un cultivo de la cepa Hall del *Clostridium botulinum* cultivada en un medio que contiene amina N-Z y extracto de levadura. El complejo de toxina botulínica de tipo A se purifica de la solución de cultivo mediante una serie de precipitaciones ácidas como un complejo cristalino compuesto de la proteína tóxica activa de alto peso molecular y una proteína hemaglutinina asociada. El complejo cristalino se redissuelve en una solución que contiene solución salina y albúmina, y se esteriliza por filtración (0,2 micrómetros) antes de la liofilización. El BOTOX® puede reconstituirse con solución salina sin conservantes antes de la inyección por vía intramuscular. Cada vial de BOTOX® contiene aproximadamente 100 unidades (U) del complejo de toxina de tipo A de *Clostridium botulinum*, 0,5 miligramos de albúmina sérica humana y 0,9 miligramos de cloruro sódico en una forma estéril liofilizada sin conservantes.
40

45 Para reconstituir el BOTOX® estéril liofilizado en solución salina normal sin conservantes, se usa cloruro sódico al 0,9% para inyección hasta completar la cantidad adecuada de diluyente en la jeringa de tamaño apropiado. Puesto que el BOTOX® se desnaturaliza por burbujeo o agitación violenta similar, el diluyente se inyecta cuidadosamente dentro del vial. El BOTOX® deberá administrarse en las cuatro horas que siguen a su reconstitución. Durante este periodo, el BOTOX® reconstituido se conserva en el frigorífico (2° a 8°C). El BOTOX® reconstituido es transparente, 50 incoloro y sin material particulado. El producto liofilizado se conserva en el frigorífico o por debajo de -5°C. BOTOX® se administra durante las cuatro horas después de retirarlo del frigorífico y reconstituirlo. Durante estas cuatro horas, el BOTOX® reconstituido puede conservarse en el frigorífico (2° a 8°C).

Otras composiciones farmacéuticas que contienen toxina botulínica disponible en el mercado incluyen Dysport®
55 (complejo de hemaglutinina y toxina de tipo A de *Clostridium botulinum* con albúmina y lactosa en la formulación, disponible de Ipsen Limited, Berkshire, Inglaterra como un polvo que se reconstituye con cloruro sódico al 0,9% antes de su uso) y MyoBloc™ (una solución inyectable que comprende toxina botulínica de tipo B, albúmina de suero humano, succinato sódico y cloruro sódico a pH de aproximadamente 5,6 de Elan Corporation, Dublín, Irlanda).

60 Acetilcolina

Normalmente, cada tipo de neurona en el sistema nervioso de mamíferos libera solo un único tipo de pequeña molécula neurotransmisora. El neurotransmisor acetilcolina es secretado por neuronas de muchas áreas del cerebro, pero específicamente por las células piramidales grandes de la corteza motora, por varias neuronas diferentes de los ganglios basales, por las neuronas motoras que inervan los músculos esqueléticos, por las neuronas preganglionares del sistema nervioso autónomo (tanto simpático como parasimpático), por las neuronas postganglionares del sistema nervioso parasimpático y por algunas de las neuronas postganglionares del sistema nervioso simpático. Esencialmente, solo las fibras nerviosas simpáticas postganglionares de las glándulas sudoríparas, los músculos piloerectores y

ES 2 278 196 T3

de algunos vasos sanguíneos son colinérgicas mientras que la mayoría de las neuronas postganglionares del sistema nervioso simpático secretan el neurotransmisor norepinefrina. En la mayoría de los casos, la acetilcolina tiene un efecto excitatorio. Sin embargo, es sabido que la acetilcolina tiene efectos inhibitorios en algunas de las terminaciones nerviosas parasimpáticas periféricas, tales como la inhibición de la frecuencia cardíaca mediante el nervio vago.

Las señales eferentes del sistema nervioso autónomo se transmiten al organismo a través del sistema nervioso simpático o del sistema nervioso parasimpático. Las neuronas preganglionares del sistema nervioso simpático se extienden hacia los cuerpos neuronales preganglionares simpáticos localizados en el asta intermediolateral de la médula espinal. Las fibras simpáticas nerviosas preganglionares, que se extienden hacia el cuerpo celular, establecen sinapsis con neuronas postganglionares localizadas en un ganglio simpático paravertebral o en un ganglio prevertebral. Dado que las neuronas preganglionares tanto del sistema nervioso simpático como del parasimpático son colinérgicas, la aplicación de acetilcolina a los ganglios excitará tanto a neuronas postganglionares simpáticas como parasimpáticas.

La acetilcolina activa dos tipos de receptores, los receptores muscarínicos y los nicotínicos. Los receptores muscarínicos se encuentran en todas las células efectoras estimuladas por las neuronas postganglionares del sistema nervioso parasimpático así como en aquellas estimuladas por las neuronas postganglionares colinérgicas del sistema nervioso simpático. Los receptores nicotínicos se encuentran en la médula adrenal así como dentro de los ganglios autónomos, que están en la superficie celular de la neurona postganglionar en la sinapsis entre las neuronas preganglionares y postganglionares de los sistemas simpático y parasimpático. Los receptores nicotínicos también se encuentran en muchas terminaciones nerviosas no autónomas, por ejemplo en las membranas de fibras musculares esqueléticas en las uniones neuromusculares.

La acetilcolina es liberada por las neuronas colinérgicas cuando pequeñas vesículas intracelulares transparentes se fusionan con la membrana celular de la neurona presináptica. Una amplia variedad de células secretoras no neuronales, tales como, células de la médula adrenal (así como la línea celular PC12) y del islote pancreático liberan catecolaminas y hormona paratiroidea, respectivamente, a partir de vesículas grandes de núcleo denso. La línea celular PC12 es un clon de células de feocromocitoma de rata, usada ampliamente como modelo de cultivo tisular en estudios de desarrollo simpatoadrenal. La toxina botulínica inhibe *in vitro* la liberación de ambos tipos de compuestos a partir de ambos tipos de células, permeabilizando (por ejemplo mediante electroporación) o mediante inyección directa de la toxina en la célula desnervada. También es sabido que la toxina botulínica bloquea la liberación del neurotransmisor glutamato a partir de cultivos celulares de sinaptosomas corticales.

Una unión neuromuscular se forma en el músculo esquelético por la proximidad de los axones a las células musculares. Una señal transmitida a través de los sistemas nerviosos da lugar a un potencial de acción en el axón terminal, con la activación de canales iónicos y dando lugar a la liberación del neurotransmisor acetilcolina a partir de vesículas sinápticas intraneuronales, por ejemplo, en la placa terminal motora de la unión neuromuscular. La acetilcolina atraviesa el espacio extracelular para unirse a proteínas receptoras de acetilcolina en la superficie de la placa terminal muscular. Una vez que se ha dado la unión suficiente, un potencial de acción de la célula muscular causa cambios específicos en los canales iónicos de la membrana, dando lugar a la contracción muscular. A continuación, se libera la acetilcolina de las células musculares y se metaboliza en el espacio extracelular mediante colinesterasas. Los metabolitos se reciclan dentro del axón terminal para su reprocessamiento de nuevo en acetilcolina.

Por tanto, se necesita un tratamiento del priapismo eficaz y de acción prolongada con pocos o ningún efecto adverso.

Resumen

La presente invención cumple esta necesidad y proporciona un tratamiento del priapismo eficaz y de acción prolongada con pocos o ningún efecto adverso.

Definiciones

Según se usa en este documento, las expresiones o términos mostrados a continuación, tienen las siguientes definiciones.

“Aproximadamente” quiere decir que el punto, parámetro o término calificado de este modo abarca un intervalo de más o menos el diez por ciento por encima y por debajo del valor del punto, parámetro o término indicado.

“Actividad biológica” con respecto a una neurotoxina incluye la capacidad de la neurotoxina para reducir o inhibir la liberación presináptica de acetilcolina.

“Administración local” quiere decir la administración directa mediante una vía no sistémica en el lugar de la enfermedad o trastorno o en su proximidad. Por tanto, la administración local de una composición farmacéutica excluye, por ejemplo, la administración por vía intravenosa u oral, pero incluye, por ejemplo, la inyección por vía intramuscular o subcutánea o la colocación de un implante para la administración del fármaco. La administración sistémica de una toxina botulínica está contraindicada porque puede dar lugar a botulismo.

“Neurotoxina” incluye toxinas nerviosas de *Clostridium*, tanto toxinas puras como formando complejos con una o más proteínas toxinas o no toxinas asociadas, formados por la bacteria *Clostridium* nativa o mediante técnicas de recombinación en una especie que no sea *Clostridium*.

5 “Toxina botulínica purificada o pura” quiere decir una toxina botulínica que está aislada, o sustancialmente aislada, de otras proteínas, incluyendo proteínas que forman un complejo de toxina botulínica. Una toxina botulínica purificada puede estar pura en más del 95% y, preferiblemente, pura en más del 99%.

10 “Paciente” quiere decir un sujeto humano o no humano que recibe tratamiento médico o veterinario.

15 La presente invención proporciona un medicamento para tratar el priapismo mediante la administración local de una toxina de *Clostridium* a un mamífero con priapismo. La toxina de *Clostridium* puede ser una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A, B, C, D, E, F o G. Preferiblemente, la toxina botulínica es una toxina botulínica de tipo A.

20 15 La toxina botulínica puede administrarse en una cantidad entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 10.000 unidades, y el priapismo puede aliviarse sustancialmente entre aproximadamente 2 semanas y aproximadamente 6 meses. Por tanto, por ejemplo, puede usarse aproximadamente 1 unidad de una toxina de tipo A para tratar el priapismo del clítoris o el priapismo infantil. Pueden usarse aproximadamente 10.000 unidades de una toxina botulínica de tipo B para tratar a un mamífero grande con un pene de tamaño considerable. En particular, la etapa de administración local se realiza mediante administración directa de la toxina de *Clostridium* en el pene del mamífero.

25 Una realización adicional de la presente invención es un medicamento para tratar el priapismo, mediante la administración local de una toxina botulínica en el pene de un mamífero con priapismo. Una realización más preferida de la presente invención es un procedimiento para tratar el priapismo, comprendiendo el procedimiento la etapa de administración local de una toxina botulínica de tipo A en el pene de un mamífero con priapismo.

Descripción

30 La invención se basa en el descubrimiento de que puede conseguirse un alivio a largo plazo del priapismo mediante la administración local de una neurotoxina a un mamífero que padece esta afección.

35 El mamífero tratado puede ser un ser humano u otra especie que muestre priapismo, tal como un mamífero doméstico, tal como un perro o un caballo. Véase, por ejemplo, Rochart M.C., *Priapism: a review*. Theriogenology 2001; 56:713-722.

40 La invención abarca el uso de una neurotoxina, tal como una toxina de *Clostridium*, tal como una toxina botulínica (cualquiera de los serotipos A, B, C, D, E, F o G) para la preparación de un medicamento para el tratamiento del priapismo en humanos o en otros mamíferos. Un uso dentro del alcance de la invención puede practicarse mediante la administración local de una toxina botulínica para tratar una erección persistente del pene, es decir, priapismo.

45 Como reafirmación, puede realizarse un uso según la presente invención inyectando un tipo de toxina botulínica para tratar el pene de un mamífero. Como se muestra anteriormente, se cree que la inervación parasimpática colinérgica induce la erección peniana del pene, mientras que los nervios simpáticos inducen la disminución de la hinchazón peniana (flacidez). Sin querer restringirse a ninguna teoría, puede plantearse la hipótesis de que una toxina botulínica, mediante la inhibición de la liberación de acetilcolina a partir de las terminaciones nerviosas parasimpáticas colinérgicas de los cuerpos cavernosos del pene, causa una inhibición de la relajación del músculo liso del pene. Por tanto, la inervación simpático adrenérgica no afectada causa la contracción del músculo liso del pene y, de este modo, un pene flácido debido al flujo sanguíneo de entrada reducido a las estructuras penianas. Por tanto, el priapismo tratable es un priapismo que responde a la regulación por disminución de la inervación parasimpática peniana. El priapismo de alto flujo puede no ser adecuado para el tratamiento. Por ejemplo, un paciente que sufre una lesión en el perineo puede mostrar un priapismo de alto flujo traumático debido a que se ha seccionado la arteria genital. La sangre entra en la arteria, va al interior del cuerpo del pene, creando de este modo una erección y, a continuación, abandona inmediatamente el pene debido a que no se contraen las venas penianas. La erección del pene se mantiene por una entrada continua de sangre (es decir, alto flujo) causada por la sección de la arteria. Con este paciente, puede realizarse un arteriograma del sistema arterial pudendo para identificar el punto de la fístula y colocar en la arteria dañada un pequeño carrete de material (una endoprótesis vascular). Probablemente, la inyección de una toxina botulínica no sería eficaz para tratar este priapismo de alto flujo.

50 55 Preferiblemente, debido a su fácil disponibilidad y a los antecedentes clínicos de tratamiento exitoso de varias indicaciones, un procedimiento dentro del alcance de la presente invención incluye la administración local de una toxina botulínica de tipo A. También puede usarse una toxina botulínica de tipo B ya que también está disponible en el mercado una toxina botulínica de tipo B, aunque se usa con una carga proteica mayor en comparación con la toxina de tipo A. La toxina botulínica de tipo A usada en la presente invención puede ser un complejo de proteínas toxinas y no toxinas, que juntas comprenden un peso molecular total de aproximadamente 900 kilodaltons, y que se usa a dosis de entre 1 y 100 unidades por paciente, estando el intervalo basado en el tamaño, edad y estado de salud del paciente, así como de la preparación comercial en particular de la toxina botulínica de tipo A usada. La toxina botulínica de tipo B usada en la presente invención puede ser una toxina pura o un complejo de proteínas toxinas y no toxinas, que

ES 2 278 196 T3

juntas comprenden un peso molecular total de aproximadamente 700 kilodaltons, y que se usa a una dosis de entre aproximadamente 50 y aproximadamente 20.000 unidades por paciente tratado.

Otros serotipos de toxina botulínica pueden usarse en proporción a las dosificaciones y concentraciones según 5 los ejemplos de este documento, según sus niveles respectivos de actividad biológica. La presente invención también abarca procedimientos para la administración concurrente o en serie de una mezcla de dos o más de las neurotoxinas anteriores para tratar de forma eficaz a un paciente con priapismo.

Una neurotoxina, tal como una toxina botulínica, puede requerir según los procedimientos de la presente invención, 10 de aproximadamente 1 hora a 7 días para lograr su efecto de disminución de la tumefacción deseada.

Adicionalmente, una neurotoxina, tal como una toxina botulínica usada según la presente invención, siempre se administra de forma local *in vivo* directamente en el pene del paciente (un mamífero). Los procedimientos de administración local de fármacos conocidos adecuados para este objetivo son una jeringa para inyección de composiciones 15 farmacéuticas líquidas y la inserción de un implante de liberación controlada (Véase, por ejemplo, las patentes de EE.UU. 6,383,509 y 6,312,708 (Donovan)). Las vías sistémicas de administración de fármacos, tales como las vías de administración oral o intravenosa, se excluyen del alcance de la presente invención debido a que no es deseable la distribución sistémica de una neurotoxina, tal como la toxina botulínica.

En otra realización, el uso comprende la administración de una neurotoxina, por ejemplo, una neurotoxina de 20 *Clostridium*, a un paciente en el que la neurotoxina difiere de una neurotoxina que aparece de forma natural (nativa) en al menos un aminoácido. Por ejemplo, pueden administrarse variantes de toxina botulínica de tipo A como se describe en *Biochemistry* 34; 5175-15181:1995 y *Eur. J. Biochem.* 185; 197-203:1989. La práctica de la presente invención puede proporcionar un tratamiento eficaz del priapismo de entre 2 semanas (es decir, si es usa una toxina de tipo E) 25 hasta aproximadamente 6 menos o más (si se usa una toxina de tipo A).

La cantidad de la neurotoxina, tal como una toxina botulínica, administrada puede variar ampliamente según el trastorno en particular que se está tratando, su gravedad y otras diversas variables del paciente, que incluyen estatura, 30 peso, edad y sensibilidad a la terapia. Generalmente, la dosis de neurotoxina que se va a administrar variará con la edad, afección que presenta y peso del mamífero tratado. También se considera la potencia de la neurotoxina que se va a administrar.

En una realización según esta invención, las dosis terapéuticamente eficaces de una neurotoxina, por ejemplo un complejo de toxina botulínica de tipo A (como Botox), pueden estar entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 35 500 unidades. Menos de aproximadamente 1 unidad puede dar lugar a un efecto de disminución de la hinchazón insuficiente, mientras que más de aproximadamente 500 unidades de una preparación de tipo A puede dar lugar a efectos sistémicos no deseados.

Aunque se proporcionan ejemplos de vías de administración y de dosificaciones, la vía de administración y la dosificación apropiadas generalmente se determinan en base a uno de los casos básicos del médico. Estas determinaciones 40 son rutinarias para un experto en la materia (véase por ejemplo, *Harrison's Principles of Internal Medicine* (1998), editado por Anthony Fauci y col., 14^a edición, publicado por McGraw Hill). Por ejemplo, la vía y las dosificaciones para la administración de una neurotoxina según la presente invención descrita, pueden seleccionarse en base a criterios tales como las características de solubilidad de la neurotoxina elegida así como la edad y estado de salud del paciente.

Puede obtenerse una neurotoxina adecuada cultivando una especie bacteriana apropiada. Por ejemplo, pueden obtenerse toxinas botulínicas estableciendo y creciendo cultivos de *Clostridium botulinum* en un fermentador y, a continuación, recogiendo y purificando la mezcla fermentada según procedimientos conocidos. Todos los serotipos de 50 toxina botulínica se sintetizan inicialmente como proteínas de cadena sencilla inactiva que puede escindirse o mellarse mediante proteasas para convertirse en neuroactiva. Las cepas bacterianas que producen toxinas botulinas de setorípos A y G poseen proteasas endógenas y los serotipos A y G pueden, por tanto, recuperarse de los cultivos bacterianos predominantemente en su forma activa. Por el contrario, las toxinas botulínicas de serotipos C₁, D y E son sintetizadas por cepas no proteolíticas y por tanto, normalmente están inactivas cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F son producidos tanto por cepas proteolíticas como no proteolíticas y, por tanto, pueden recuperarse en forma activa o inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen, por ejemplo, la toxina botulínica de serotipo de tipo B sólo escinde una porción de la toxina producida. La proporción exacta de moléculas melladas con respecto a no melladas depende de la longitud de incubación y de la temperatura del cultivo.

Si se va a usar una neurotoxina modificada, pueden usarse técnicas recombinantes para producir las neurotoxinas deseadas. La técnica incluye las etapas de obtener materiales genéticos a partir de fuentes naturales, o de fuentes 60 sintéticas, que codifiquen un resto de unión a una neurona, una secuencia de aminoácidos eficaz para translocar la neurotoxina, o una parte de la misma, y una secuencia de aminoácidos que tiene actividad terapéutica cuando se libera en el citoplasma de una célula diana, preferiblemente una neurona.

Un uso dentro del alcance de la presente invención puede proporcionar una función mejorada del paciente. "Función 65 mejorada del paciente" puede definirse como una mejora medida mediante factores tales como reducción del dolor, reducción del tiempo en cama, aumento del tiempo de paseo, actitud más saludable, estilo de vida mas variado

y/o curación permitida por un tono muscular normal. La función mejorada del paciente es sinónimo de una mejora de la calidad de vida (CdV). La CdV puede evaluarse usando, por ejemplo, los procedimientos de puntuación mediante las encuestas de salud SF-12 o SF-36. SF-36 evalúa la salud física y mental de un paciente en los ocho dominios de función física, limitaciones de la función debido a problemas físicos, funcionamiento social, dolor corporal, salud mental general, limitaciones de la función debido a problemas emocionales y percepciones de la salud general. Los valores obtenidos pueden compararse con valores publicados disponibles para diversas poblaciones generales y de pacientes.

Ejemplos

10 Ejemplo 1
Tratamiento del priapismo con toxina botulínica de tipo A

15 Un varón de 24 años de edad se presenta con una erección de dos días de duración. El examen revela un pene endurcido con un glande blando. El recto y el abdomen no presentan evidencias de cáncer. Un recuento de sangre completa (RSC), el perfil de coagulación, el recuento de plaquetas y el análisis de orina no indican leucemia o enfermedad de células falciformes.

20 Se realiza un bloqueo del nervio peniano inyectando lidocaina al 1% alrededor de la base del tallo del pene. A continuación, se inyecta una toxina botulínica, percutáneamente en ambos cuerpos cavernosos del pene en múltiples sitios. Esto permite una amplia difusión de la toxina botulínica en el cuerpo cavernoso. Las inyecciones de toxina botulínica pueden realizarse con una aguja muy fina (30 G o menor) para el confort del paciente. La toxina botulínica se inyecta en aproximadamente 4-8 sitios de cada cuerpo cavernoso. Preferiblemente, se inyectan ambos cuerpos 25 cavernosos del pene. La dosis por cuerpo cavernoso es de 20-40 unidades de una toxina botulínica de tipo A (es decir, Botox®) (distribuidas en 4-8 sitios). Una inyección bilateral requiere 40-80 unidades en total. El volumen que se va a inyectar tiene que ser menor de 0,5 ml por cuerpo cavernoso, y no debe excederlo. Alternativamente, pueden usarse aproximadamente cuatro veces estas cantidades de unidades de una toxina botulínica de tipo A alterna (es decir, 160-320 unidades totales de Dysport®) o aproximadamente 50 veces las cantidades de unidades dadas si se usa una toxina 30 botulínica de tipo B (es decir, 1.000-2.000 unidades totales de MyoBloc™). El efecto de la toxina botulínica puede tener lugar durante las primeras 24 horas tras la inyección y consiste en una detumescencia peniana y en el final de la erección. La duración del efecto es de 2-6 meses.

35 Ejemplo 2
Tratamiento del priapismo con toxina botulínica de tipo B

D.E. era un profesional de la medicina que había leído sobre el tratamiento de la disfunción eréctil con inyecciones en el pene. Se inyectó a sí mismo una dosis que excedía con mucho la que necesitaba y desarrolló un pene muy endurecido que se mantuvo durante varias horas, tras lo cual la afección se volvió dolorosa y acudió al servicio de urgencias de un hospital. Se siguió el procedimiento mostrado en el Ejemplo 1 excepto porque la dosis por cuerpo cavernoso fue de 1.000-4.000 unidades de una toxina botulínica de tipo B (es decir, MyoBlock™) (distribuido en 4-8 sitios). Una inyección bilateral requiere 2.000-8.000 unidades en total. El efecto de la toxina botulínica de tipo B puede tener lugar durante las primeras 24 horas tras la inyección y consiste en una disminución de la hinchazón peniana y en 45 el final de la erección. La duración del efecto es de 2-6 meses.

Ejemplo 3
Tratamiento del priapismo con toxina botulínica de tipos C-G

50 Un varón de 42 años de edad que toma fármacos neurolépticos para trastornos psiquiátricos acude con una erección de 14 horas de duración. Se le inyecta percutáneamente una toxina botulínica de tipo C, D, E, F o G en ambos cuerpos cavernosos del pene en múltiples sitios. Esto permite una amplia difusión de la toxina en el cuerpo cavernoso. Las inyecciones de toxina botulínica pueden realizarse con una aguja muy fina (30 G o menor). La toxina se inyecta 55 en aproximadamente 4-8 sitios a lo largo de cada cuerpo cavernoso. Preferiblemente, se inyecta en ambos cuerpos cavernosos del pene. La dosis por cuerpo cavernoso y la duración de la disminución depende del serotipo de toxina botulínica usado. La toxina botulínica seleccionada se inyecta bilateralmente en 4-8 sitios. El efecto de la toxina botulínica puede tener lugar aproximadamente 2 horas después de la inyección y puede durar hasta seis meses.

60 Ejemplo 4
Tratamiento del priapismo equino con una toxina botulínica

65 Se examina un semental pura sangre de cuatro años por el priapismo que había desarrollado a consecuencia del uso de un tranquilizante derivado de fenotiazina. El semental no responde al lavado del cuerpo cavernoso del pene con una solución de NaCl al 0,9% heparinizada o con mesilato de benzotropina intravenoso.

ES 2 278 196 T3

Tres días después del inicio del priapismo, el pene está duro, no distensible y con sensación de dolor peniano, y ha desaparecido la capacidad para retraer el pene. La ultrasonografía confirmó la trombosis del cuerpo cavernoso peniano. Se inyectan 20 unidades de toxina botulínica de tipo A (Botox®) en dos sitios a lo largo de cada cuerpo cavernoso (80 unidades totales). La erección remite, el pene se retrae dentro de la vaina y el semental es capaz de lograr posteriormente erecciones normales.

Un uso según la invención descrita en este documento tiene muchas ventajas, incluyendo las siguientes:

1. puede lograrse rápidamente un alivio eficaz del priapismo.

2. puede lograrse un alivio a largo plazo del priapismo.

3. la práctica de la invención descrita tiene efectos adversos mínimos o nulos.

Aunque la presente invención se ha descrito en detalle con respecto a ciertos procedimientos preferidos, son posibles otras realizaciones, versiones y modificaciones dentro del alcance de la presente invención. Por tanto, toxinas de *Clostridium* recombinantes, químéricas y modificadas, incluyendo toxinas botulínicas recombinantes, químéricas y modificadas pueden mostrar eficacia. Adicionalmente, el uso según la presente invención incluye un tratamiento del priapismo mediante la administración local de dos o más neurotoxinas, de este modo, dos o más toxinas botulínicas

se administran de forma concurrente o consecutiva. Por ejemplo, puede administrarse una toxina botulínica de tipo A hasta la pérdida de respuesta clínica o hasta que se desarrolle anticuerpos neutralizantes, seguido de la administración de toxinas botulínicas de tipo B o E. Alternativamente, puede administrarse localmente una combinación de dos o más de cualquiera de los serotipos botulínicos A-G para controlar el inicio y la duración del resultado terapéutico deseado. Además pueden administrarse compuestos no neurotóxicos antes, conjuntamente o tras la administración de

la neurotoxina para probar efectos adjuntos tales como potenciación o un inicio más rápido de la desnervación antes de la neurotoxina, tal como una toxina botulínica, antes de ejercer su efecto terapéutico. Finalmente, la invención abarca el uso de una toxina botulínica que actúa relativamente a corto plazo, tal como una toxina botulínica de tipo E, cuando está indicado el uso de una toxina de acción a corto plazo.

La presente invención también incluye el uso de un medicamento que comprende una toxina de *Clostridium*, tal como una toxina botulínica para el tratamiento del priapismo mediante la administración local de la toxina de *Clostridium*.

35

40

45

50

55

60

65

ES 2 278 196 T3

REIVINDICACIONES

1. Uso de una toxina de *Clostridium* en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del priapismo.
- 5 2. Uso según la reivindicación 1, en el que el medicamento es para administración local.
3. Uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que la toxina de *Clostridium* es una toxina botulínica.
- 10 4. Uso según la reivindicación 3, en el que la toxina botulínica se selecciona entre el grupo constituido por toxinas botulínicas de los tipos A, B, C, D, E, F y G.
5. Uso según la reivindicación 4, en el que la toxina botulínica es una toxina botulínica de tipo A.
- 15 6. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que la toxina botulínica debe ser administrada en una cantidad de entre 1 unidad y aproximadamente 10.000 unidades.
7. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el priapismo mejora sustancialmente entre dos semanas y seis meses.
- 20 8. Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 7, en el que la administración local deberá ser realizada mediante la administración directa de la toxina de *Clostridium* en el pene.

25

30

35

40

45

50

55

60

65