



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 328 818**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)
A61K 31/185 (2006.01)
A61K 9/22 (2006.01)
A61K 9/32 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 31/12 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **04744039 .1**

(96) Fecha de presentación : **21.06.2004**

(97) Número de publicación de la solicitud: **1635799**

(97) Fecha de publicación de la solicitud: **22.03.2006**

(54) Título: **Formulaciones farmacéuticas de compuestos inhibidores de amiloide.**

(30) Prioridad: **23.06.2003 US 480984 P**
17.10.2003 US 512116 P
18.06.2004 US 871549

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.11.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.11.2009

(73) Titular/es: **BELLUS Health (International) Limited**
Parc Scientifique sur le site de l'Ecole
Polytechnique Federale de Lausanne a Ecublens
1015 Lausanne, CH

(72) Inventor/es: **Legore, Audley y**
Garceau, Denis

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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

Formulaciones farmacéuticas de compuestos inhibidores de amiloide.

5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud de patente reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/480.984, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-152-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.116, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-152-2, ambas tituladas *Pharmaceutical Formulations of Amyloid-Inhibiting Compounds*, y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-152, titulada *Pharmaceutical Formulations of Amyloid-Inhibiting Compounds*.

La presente solicitud de patente está relacionada con la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/436.379, presentada el 24 de diciembre de 2002, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-154.1, titulada *Combination Therapy for the Treatment of Alzheimer's Disease*, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/482.214, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-154.2, la solicitud de patente de utilidad de Estados Unidos n.º 10/746.138, presentada el 24 de diciembre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-154, y la solicitud de patente internacional n.º PCT/CA2003/002011, identificada mediante el código NBI-154PC titulada *Therapeutic Formulations for the Treatment of Beta-Amyloid Related Diseases*. La presente solicitud de patente está relacionada con la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/482.058, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.135, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156-2, ambas tituladas *Synthetic Process for Preparing Compounds for Treating Amyloidosis*, y la solicitud de patente de Estados Unidos 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156, titulada *Improved Pharmaceutical Drug Candidates and Method for Preparation Thereof*. La presente solicitud de patente también está relacionada con la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/480.918, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-149-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.017, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-149-2, y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-149 tituladas *Methods for Treating Protein Aggregation Disorders*. La presente solicitud de patente también está relacionada con la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/480.906, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-162-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.047, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-162-2, y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-162A y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-162B, todas las cuales se titulan *Methods and compositions for Treating Amyloid-Related Diseases*; y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/480.928, también presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-163-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.018, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-163-2, y la solicitud de patente de Estados Unidos n.º 10/XXX.XXX, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-163, todas tituladas *Methods and Compositions for the Treatment of Amyloid and Epileptogenesis-Associated Diseases*. La presente solicitud de patente también está relacionada con *Method for treating Amyloidosis*, solicitud de patente de Estados Unidos n.º 08/463.548, actualmente patente de Estados Unidos n.º 5.972.328, identificada mediante el n.º de expediente de agente NCI-003CP4.

50 Antecedentes de la invención

Amiloidosis se refiere a la afección patológica caracterizada por la presencia de fibrillas amiloides. Amiloide es un término genérico que se refiere a un grupo de depósitos de proteínas diversos pero específicos (intracelulares o extracelulares) que se observan en numerosas enfermedades diferentes. Aunque son diversos en su aparición, todos los depósitos amiloides tienen propiedades morfológicas comunes, se tiñen con tintes específicos (por ejemplo, rojo del Congo), y tienen un aspecto birrefringente rojo y verde característico bajo luz polarizada después de teñir. También comparten características ultraestructurales comunes y espectros de difracción de rayos X e infrarrojos comunes.

Las enfermedades relacionadas con amiloide o bien pueden estar restringidas a un órgano o bien extenderse a varios órganos. El primer caso se denomina "amiloidosis localizada" mientras que el segundo se denomina "amiloidosis sistémica".

Algunas enfermedades amiloides pueden ser idiopáticas, pero la mayoría de estas enfermedades parecen ser una complicación de un trastorno previo. Por ejemplo, la amiloidosis primaria (AL amiloide) puede aparecer sin ninguna otra patología o puede aparecer después de discrasia de células plasmáticas o de mieloma múltiple.

La amiloidosis secundaria habitualmente se observa asociada a la infección crónica (como por ejemplo en la tuberculosis) o en la inflamación crónica (como por ejemplo en la artritis reumatoide). También se observa una forma familiar de amiloidosis secundaria en otros tipos de amiloidosis familiar, por ejemplo, en la fiebre mediterránea familiar (FMF). Este tipo familiar de amiloidosis se hereda genéticamente y se encuentra en grupos de población específicos.

5 Tanto en la amiloidosis primaria como en la secundaria, se encuentran depósitos en varios órganos y por lo tanto se consideran enfermedades amiloides sistémicas.

Las “amiloidosis localizadas” son aquellas que tienden a afectar a un único sistema de órganos. Las diferentes amiloidosis también se caracterizan por el tipo de proteína presente en el depósito. Por ejemplo, las enfermedades neurodegenerativas como por ejemplo la encefalopatía espongiiforme ovina, la encefalitis espongiiforme bovina, la enfermedad de Creutzfeldt-Jakob y similares se caracterizan por la aparición y acumulación de una forma resistente a proteasas de una proteína priónica (denominada A β Sc o PrP-27) en el sistema nervioso central. De forma similar, la enfermedad de Alzheimer, otro trastorno neurodegenerativo, se caracteriza por placas neuríticas y marañas neurofibrilares. En este caso, las placas amiloides que se encuentran en el parénquima y en los vasos sanguíneos se forman por la precipitación de proteína amiloide A β . Otras enfermedades como por ejemplo la diabetes de inicio en el adulto (diabetes de tipo II) se caracterizan por la acumulación localizada de fibrillas de amiloide en el páncreas.

10
15

Una vez se han formado estos amiloides, no existe ninguna terapia ni tratamiento conocidos de aceptación amplia que disuelva significativamente los depósitos *in situ*, que prevenga la precipitación de amiloide o que prevenga el inicio de la precipitación de amiloide.

20

Cada proteína amiloidógena tiene la capacidad de sufrir un cambio de conformación para organizarse en forma de láminas β y de formar fibrillas insolubles que pueden depositarse de forma intracelular o extracelular. Cada proteína amiloidógena, aunque con diferentes secuencias de aminoácidos, tiene la misma propiedad de formar fibrillas y de unirse a otros elementos como por ejemplo proteoglucano, amiloide P y el componente de complemento. Además, cada proteína amiloidógena diferente tiene las secuencias de aminoácidos que, aunque son diferentes, muestran similitudes como por ejemplo regiones con la capacidad de unirse a la porción de glucosaminoglucano (GAG) del proteoglucano (denominado sitio de unión de GAG) así como otras regiones que promueven la formación de láminas β . Los proteoglucanos son macromoléculas de diversos tamaños y estructuras que están distribuidas por casi todas partes en el organismo. Pueden encontrarse en el compartimiento intracelular, sobre la superficie de las células y como parte de la matriz extracelular. La estructura básica de todos los proteoglucanos está compuesta por una proteína nuclear y al menos una, pero frecuentemente más, cadenas de polisacáridos (GAG) unidas a la proteína nuclear. Se han descubierto muchas GAG diferentes que incluyen sulfato de condroitina, sulfato de dermatán, sulfato de keratán, heparina y hialuronano.

25
30
35

En casos específicos, las fibrillas amiloides, una vez se han depositado, pueden volverse tóxicas para las células que las rodean. Por ejemplo, se ha demostrado que las fibrillas A β organizadas en forma de placas seniles están asociadas a células neuronales muertas, neuritis distróficas, astrocitosis y microglisis en pacientes con enfermedad de Alzheimer. Cuando se analizó *in vitro*, se demostró que el péptido A β oligomérico (soluble) así como el fibrilar eran capaces de desencadenar un proceso de activación de la microglía (macrófagos cerebrales), que explicaría la presencia de microglisis e inflamación cerebral que se encuentra en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer. Tanto el péptido A β oligomérico como el fibrilar pueden inducir también la muerte de células neuronales *in vitro*. Véase, por ejemplo, MP Lambert y cols., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 6448-53 (1998).

40

En otro tipo de amiloidosis que se observa en pacientes con diabetes de tipo II, se ha observado que la proteína amiloidógena IAPP, cuando se organiza en formas oligoméricas o en fibrillas, induce toxicidad de los islotes β *in vitro*. Por lo tanto, la aparición de fibrillas IAPP en el páncreas de los pacientes con diabetes de tipo II contribuye a la pérdida de los islotes β (Langerhans) y a la disfunción orgánica que puede provocar insulinemia.

45

Otro tipo de amiloidosis se refiere a la microglobulina β_2 y se encuentra en los pacientes de hemodiálisis a largo plazo. Los pacientes que se someten a hemodiálisis a largo plazo desarrollarán fibrillas de microglobulina β_2 en el túnel carpiano y en los tejidos ricos en colágeno de diversas articulaciones. Esto provoca dolores graves, rigidez e hinchazón en las articulaciones.

50

La amiloidosis también es característica de la enfermedad de Alzheimer. La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad devastadora del cerebro que provoca una progresiva pérdida de memoria que causa demencia, discapacidad física y muerte durante un periodo de tiempo relativamente largo. Con el envejecimiento de la población en los países desarrollados, el número de pacientes de Alzheimer está alcanzando proporciones de epidemia.

55

Las personas que padecen la enfermedad de Alzheimer desarrollan una demencia progresiva en la etapa adulta, acompañada por tres cambios estructurales principales en el cerebro: pérdida difusa de neuronas en múltiples partes del cerebro; acumulación de depósitos de proteínas intracelulares denominados marañas neurofibrilares; y acumulación de depósitos de proteínas extracelulares denominados placas de amiloide o seniles, rodeadas de terminaciones nerviosas deformadas (neuritis distróficas) y microglía activada (microglisis y astrocitosis). Un constituyente principal de estas placas amiloides es el péptido amiloide β (A β), una proteína de 39-43 aminoácidos que se produce por la escisión de la proteína precursora amiloide β (APP). Se ha realizado una extensa investigación sobre la relevancia de los depósitos de A β en la enfermedad de Alzheimer, véase por ejemplo, Selkoe, *Trends in Cell Biology* 8, 447-453 (1993). El A β se produce de forma natural en el procesamiento metabólico de la proteína precursora amiloide (“APP”) en el

60
65

retículo endoplasmático ("ER"), el aparato de Golgi, o la ruta endosómica y lisosómica, y se segrega normalmente en forma de un péptido de 40 ("A β 1-40") o 42 ("A β 1-42") aminoácidos (Selkoe, *Annu. Rev. Cell Biol.* 10, 373-403 (1994)). El papel de A β como causa principal de la enfermedad de Alzheimer viene apoyado por la presencia de depósitos de A β extracelular en las placas seniles de la enfermedad de Alzheimer, la mayor producción de A β en las células que alojan genes mutantes asociados a la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, proteína precursora amiloide, presenilina I y presenilina II; y la toxicidad de A β extracelular soluble (oligomérico) o fibrilar hacia las células cultivadas. Véase, por ejemplo, Gervais, *Eur. Biopharm. Review*, 40-42 (Otoño de 2001); Mayo, *DDT* 6, 459-62 (2001). Aunque existen tratamientos para los síntomas de la enfermedad de Alzheimer, esta enfermedad no puede prevenirse ni curarse actualmente.

La enfermedad de Alzheimer se caracteriza por placas difusas y neuríticas, angiopatía cerebral y marañas neurofibrilares. Se cree que el amiloide de las placas y de los vasos sanguíneos se forma por la precipitación de proteína amiloide A β insoluble, que puede describirse como difusa o fibrilar. Se cree que tanto el A β insoluble oligomérico como el A β fibrilar son neurotóxicos e inflamatorios.

Otro tipo de amiloidosis es la angiopatía amiloide cerebral (CAA). La CAA es la precipitación específica de fibrillas de amiloide β en las paredes de las arterias, arteriolas y venas leptomeníngeas y corticales. Está asociada habitualmente a la enfermedad de Alzheimer, al síndrome de Down y al envejecimiento normal, así como con una variedad de afecciones familiares relacionadas con la apoplejía o la demencia (véase Frangione y cols., *Amyloid: J. Protein Holding Disord.* 8, Supl. 1, 36-42 (2001)).

Las terapias actualmente disponibles para el tratamiento de las enfermedades con amiloide β son casi totalmente sintomáticas, proporcionando únicamente un beneficio clínico temporal o parcial. Aunque se han descrito algunos agentes farmacéuticos que ofrecen un alivio sintomático parcial, no hay actualmente ninguna terapia farmacológica global para la prevención ni el tratamiento de, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

Sumario de la invención

1. La presente invención proporciona formulaciones que comprenden una sustancia que se selecciona a partir de ácido 3-amino-1-propanosulfónico y sus sales farmacéuticamente aceptables, y un componente adicional que se selecciona a partir de un recubrimiento entérico y un agente que proporciona una liberación lenta o controlada de la sustancia,

para usar en el tratamiento o prevención orales de una enfermedad o afección relacionada con amiloide que se selecciona a partir del grupo constituido por enfermedad de Alzheimer, angiopatía amiloide cerebral, miositis con cuerpos de inclusión, degeneración macular, síndrome de Down, deficiencia cognitiva leve, declive cognitivo y hemorragia cerebral hereditaria,

a la vez que reducen o previenen la intolerancia gastrointestinal.

2. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la enfermedad o afección relacionada con amiloide se trata de forma profiláctica o terapéutica.

3. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la formulación comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 3, que comprende un agente que modifica la liberación de la sustancia, un deslizante/diluyente, una carga, un aglutinante/disgregante, un lubricante, un recubrimiento interno, un recubrimiento externo, un recubrimiento entérico, y cualquier combinación de los mismos.

5. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el agente que modifica la liberación de la sustancia es hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

6. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el deslizante/diluyente es celulosa microcristalina silicatada.

7. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que la carga es fosfato cálcico dibásico.

8. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que aglutinante/disgregante es Starch® 1500.

9. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el lubricante es ácido esteárico en polvo.

10. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el lubricante es estearato de magnesio.

11. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el recubrimiento interno es Opadry® II White.

12. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el recubrimiento externo es Opadry® II White u Opadry® Clear.

13. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 4, en la que el recubrimiento entérico es Acryleze®.

14. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la sustancia está presente en una cantidad suficiente para inhibir la neurodegeneración o la toxicidad celular inducida por amiloide, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la enfermedad relacionada con amiloide es angiopatía amiloide cerebral.

16. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la enfermedad relacionada con amiloide es enfermedad de Alzheimer.

17. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la formulación comprende la sustancia y más de 1% en peso de un agente adicional.

18. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 17, en la que el agente adicional es un recubrimiento entérico.

19. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 17, en la que el agente adicional es un agente que modifica la liberación de la sustancia.

20. En un aspecto, la invención se refiere a la formulación del apartado 1, en la que la formulación es para inhibir la precipitación de amiloide.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a formulaciones útiles para tratar amiloidosis como se especifica en las reivindicaciones anexas. En particular la presente invención por lo tanto se refiere a formulaciones terapéuticas en la prevención o tratamiento de enfermedades relacionadas con amiloide como se especifica en las reivindicaciones anexas.

I. Enfermedades relacionadas con amiloide

La presente invención se refiere a formulaciones que comprenden compuestos terapéuticos útiles en el tratamiento de enfermedades relacionadas con amiloide como se especifica en las reivindicaciones anexas. Se conocen muchas enfermedades relacionadas con amiloide e indudablemente existen muchas otras

Amiloidosis AA (Reactiva)

Generalmente, la amiloidosis AA es una manifestación de un número de enfermedades que provocan una respuesta de fase aguda mantenida. Dichas enfermedades incluyen trastornos inflamatorios crónicos, infecciones microbianas locales o sistémicas crónicas, y neoplasmas malignos. La forma más común de amiloidosis reactiva o secundaria (AA) que se observa es debida a afecciones inflamatorias a largo plazo. Por ejemplo, los pacientes con artritis reumatoide o fiebre mediterránea familiar (que es una enfermedad genética) pueden desarrollar amiloidosis AA. Los términos “amiloidosis AA” y “amiloidosis (AA) secundaria” se usan de forma intercambiable.

Las fibrillas de AA están compuestas generalmente por fragmentos de 8.000 Daltons (péptido o proteína AA) formados por la escisión proteolítica de la proteína A amiloide serosa (ApoSAA), una apolipoproteína de la circulación que es sintetizada principalmente por los hepatocitos como respuesta a citocinas como por ejemplo IL-1, IL-6 y TNF. Una vez segregada, la ApoSAA forma complejos con HDL. La precipitación de fibrillas de AA puede estar muy extendida en el organismo, con preferencia por los órganos parenquimatosos. Los riñones son habitualmente un sitio de precipitación y el hígado y el bazo pueden verse afectados también. También se observa precipitación en el corazón, tubo gastrointestinal y la piel.

Las enfermedades subyacentes que pueden provocar el desarrollo de amiloidosis AA incluyen, pero sin limitación, enfermedades inflamatorias, como por ejemplo artritis reumatoide, artritis crónica juvenil, espondilitis anquilosante, soriasis, artropatía soriasica, síndrome de Reiter, enfermedad de Still en el adulto, síndrome de Behcet y enfermedad de Crohn. Los depósitos de AA también se producen como resultado de infecciones microbianas crónicas, como por ejemplo lepra, tuberculosis, bonquictasia, úlceras de decúbito, pielonefritis crónica, osteomielitis y enfermedad de

Whipple. Ciertos neoplasmas malignos también pueden provocar depósitos de fibrillas amiloides AA. Estos incluyen afecciones como por ejemplo linfoma de Hodgkin, carcinoma renal, carcinomas de estómago, pulmón y tracto urogenital, carcinoma de células basales y leucemia de células pilosas. Otras afecciones subyacentes que pueden estar asociadas con la amiloidosis AA son la enfermedad de Castleman y el síndrome de Schnitzler.

Amiloidosis AL (amiloidosis primaria)

La precipitación de amiloide AL generalmente está asociada a casi cualquier discrasia de la línea de los linfocitos B, desde enfermedades malignas de las células plasmáticas (mieloma múltiple) a gammopatía monoclonal benigna. En ocasiones, la presencia de depósitos de amiloide puede ser un indicador primario de la discrasia subyacente. La amiloidosis AL se describe también en detalle en *Current Drug Targets*, 2004, 5 159-171.

Las fibrillas de los depósitos de amiloide AL están compuestas por cadenas ligeras de inmunoglobulinas monoclonales o sus fragmentos. De forma más específica, los fragmentos se derivan de la región del extremo N de la cadena ligera (kappa o lambda) y contienen todo o parte de su dominio variable (V_L). Los depósitos generalmente se presentan en los tejidos mesenquimatosos, provocando neuropatía periférica y autonómica, síndrome del túnel carpiano, macroglosia, cardiomiopatía restrictiva, artropatía de las articulaciones grandes, discrasias inmunitarias, mielomas, así como discrasias ocultas. Sin embargo, debería observarse que puede verse afectado casi cualquier tejido, en particular los órganos viscerales tales como el riñón, el hígado, el bazo y el corazón.

Amiloidosis sistémicas hereditarias

Existen muchas formas de amiloidosis sistémicas hereditarias. Aunque son afecciones relativamente raras, el inicio de los síntomas en la edad adulta y sus patrones de herencia (habitualmente autosómicos dominantes) provocan la persistencia de dichos trastornos en la población general. Generalmente, los síndromes pueden atribuirse a mutaciones puntuales en la proteína precursora que provocan la producción de variantes de péptidos o proteínas amiloidógenas. La Tabla 1 resume la composición de las fibrillas de formas ejemplares de estos trastornos.

TABLA 1

Composición de las fibrillas de enfermedades relacionadas con amiloide ejemplares

Péptido/proteína de las fibrillas	Variante genética	Síndrome clínico
Proteína ATTR de transtiretina y fragmentos	Met30, muchas otras	Polineuropatía amiloide familiar (FAP), (principalmente nervios periféricos)
Proteína ATTR de transtiretina y	Thr45, Ala60, Ser84, Met111,	Afectación cardíaca predominante sin neuropatía, polineuropatía

	Péptido/proteína de las fibrillas	Variante genética	Síndrome clínico
5	fragmentos	Ile122	amiloides familiar, amiloidosis sistémica senil, tenosinovio
10	Fragmento del extremo N de apolipoproteína A1 (apoA1)	Arg26	Polineuropatía amiloide familiar (FAP), (principalmente nervios periféricos)
15	Fragmento del extremo N de apolipoproteína A1 (ApoA1)	Arg26, Arg50, Arg 60, otros	De tipo Ostertag, no neuropático (predominantemente afectación visceral)
20	ApoAII de apolipoproteína AII		Amiloidosis familiar
25	Lisozima (Alys)	Thr56, His67	De tipo Ostertag, no neuropático (predominantemente afectación visceral)
30	Fragmento de la cadena alfa de fibrógeno	Leu554, Val 526	Neuropatía craneal con distrofia corneal reticular
35	Fragmento de Gelsolina (Agel)	Asn 187, Tyr 187	Neuropatía craneal con distrofia corneal reticular
40	Fragmento de cistatina C (ACys)	Glu68	Hemorragia cerebral hereditaria (angiopatía amiloide cerebral) - de tipo Islandés
45	Proteína amiloide β (A β) derivada de la proteína precursora amiloide (APP)	Glu693	Hemorragia cerebral hereditaria (angiopatía amiloide cerebral) – De tipo holandés
50	Proteína amiloide β (A β) derivada de la proteína precursora amiloide (APP)	Ile717, Phe717, Gly717	Enfermedad de Alzheimer familiar
55	Proteína amiloide β (A β) derivada de la proteína precursora amiloide (APP), por ejemplo bPP 695	Gln618	Enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis de tipo holandés
60			
65			

Péptido/proteína de las fibrillas	Variante genética	Síndrome clínico
Proteína amiloide β ($A\beta$) derivada de la proteína precursora amiloide (APP)	Asn670, Leu671	Demencia familiar – probablemente enfermedad de Alzheimer
Proteína priónica (PrP, APrP ^{SC}) derivada de la proteína precursora Prp (inserto 51-91)	Leu102 Val167 Asn178, Lys200	Enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar; síndrome de Gerstmann- Sträussler-Scheinker (encefalopatías espongiformes hereditarias, enfermedades por priones)
AA derivada de la proteína amiloide A serosa (ApoSAA)		Fiebre mediterránea familiar, afectación renal predominante (autosómica recesiva)
AA derivada de la proteína amiloide A serosa (ApoSAA)		Síndrome de Muckle-Well, nefropatía, sordera, urticaria, dolor en los miembros
Desconocida		Cardiomiopatía con parada auricular persistente
Desconocida		Depósitos cutáneos (bulbosos, pápulas, pustulodérmicos)
Proteína amiloide AH, derivada de la cadena pesada de la inmunoglobulina (gamma I)	Ay I	Amiloidosis asociada a mielomas
Proteína amiloide ACal de (pro)calcitonina	(Pro)calcitonina	Carcinomas medulares del tiroides
Proteína amiloide AANF del factor natriurético auricular		Amiloide auricular aislado
Apro de prolactina		Prolactinomas
Abri/ADan del péptido		Demencia familiar británica y

Péptido/proteína de las fibrillas	Variante genética	Síndrome clínico
ABri		holandesa

Datos derivados de Tan SY, Pepys MB. Amyloidosis. *Hisopathology*, 25 (5), 403-414 (noviembre de 1994), WHO/IUIS Nomenclature Subcommittee, Nomenclature of Amyloid and Amyloidosis. Bulletin of the World Health Organisation 1993; 71: 10508; y Merlini y cols., Clin Chem Lab Med 2001; 39(11); 1065-75.

Los datos que se proporcionan en la Tabla 1 son ejemplares y no se pretende que limiten el alcance de la invención tal como se define en las reivindicaciones anexas. Por ejemplo, se han descrito más de 40 mutaciones puntuales diferentes en el gen de transtiretina, todas las cuales dan lugar a formas clínicamente similares de polineuropatía amiloide familiar.

En general, cualquier trastorno amiloide hereditario también puede producirse de forma esporádica, y tanto las formas hereditarias como esporádicas de una enfermedad se presentan con las mismas características en lo que respecta al amiloide. Por ejemplo, la forma más extendida de amiloidosis AA secundaria se produce de forma esporádica, por ejemplo, provocada por la inflamación continuada y no está asociada a la fiebre mediterránea familiar. Por lo tanto, la descripción general sobre los trastornos amiloides hereditarios siguiente puede aplicarse también a las amiloidosis esporádicas.

La transtiretina (TTR) es una proteína de 14 kilodaltons que también se denomina algunas veces prealbúmina. Es producida por el hígado y el plexo coróide y funciona transportando hormonas tiroideas y vitamina A. Al menos 50 variantes de la proteína, cada una caracterizada por un cambio de aminoácido único, son responsables de diversas formas de polineuropatía amiloide familiar. Por ejemplo, la sustitución de leucina por prolina en la posición 55 provoca una forma particularmente progresiva de neuropatía; la sustitución de leucina por metionina en la posición 111 provocó una cardiopatía grave en pacientes daneses.

Los depósitos de amiloide aislados del tejido cardíaco de pacientes con amiloidosis han revelado que los depósitos están compuestos por una mezcla heterogénea de TTR y sus fragmentos, denominados de forma colectiva ATTR, cuyas secuencias completas han sido caracterizadas. Los componentes de las fibrillas de ATTR pueden extraerse de dichas placas y su estructura y secuencia determinarse de acuerdo con los procedimientos conocidos en la técnica (por ejemplo, Gustavsson, A., y cols., Laboratory Invest. 73: 703-708, 1995; Kametani, F., y cols., Biochem. Biophys. Res. Commun. 125: 622-628, 1984; Pras, M., y cols., PNAS 80: 539-42, 1983).

Las personas con mutaciones puntuales en la molécula de apolipoproteína A1 (por ejemplo, Gly → Arg26; Trp → Arg50; Leu → Arg 60) muestran una forma de amiloidosis ("de tipo Östertag") caracterizada por depósitos de la proteína apolipoproteína AI o sus fragmentos (AApoAI). Estos pacientes tienen niveles bajos de lipoproteína de alta densidad (HDL) y desarrollan una neuropatía periférica o insuficiencia renal.

Una mutación en la cadena alfa de la enzima lisozima (por ejemplo, Ile → Thr56 o Asp → His57) es la base de otra forma de amiloide hereditario no neuropático de tipo Östertag que se ha reseñado en familias inglesas. Aquí, se depositan fibrillas de la proteína de lisozima mutante (Alys), y los pacientes generalmente muestran una función renal alterada. Esta proteína, al contrario que la mayoría de las proteínas que forman fibrillas que se describen en la presente memoria, está habitualmente presente en forma entera (no fragmentada) (Benson, M.D., y cols. CIBA Fdn. Symp. 199: 104-131, 1996).

Las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas tienden a formar agregados en diversas morfologías, que incluyen la fibrilar (por ejemplo, amiloidosis AL y amiloidosis AH), granular (por ejemplo, la enfermedad por precipitación de cadenas ligeras (LCDD), la enfermedad por precipitación de cadenas pesadas (HCDD), y la enfermedad por precipitación de cadenas ligeras y pesadas (LHCDD)), cristalina (por ejemplo, síndrome de Farconi adquirido) y microtubulares (por ejemplo, crioglobulinemia). La amiloidosis AL y AH viene indicada por la formación de fibrillas insolubles de cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulinas, respectivamente, y/o sus fragmentos. En las fibrillas AL, se encuentran cadenas lambda (λ) tales como cadenas λ VI (cadenas λ 6) en concentraciones mayores que las cadenas kappa (κ). Las cadenas λ III también están ligeramente elevadas. Merlini y cols., CLIN CHEM LAB MED 39 (11): 1065-75 (2001). La amiloidosis de cadenas pesadas (AH) generalmente se caracteriza por agregados de proteínas amiloides de cadenas gamma de la subclase IgG1. Eulitz y cols. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 87: 6542-46 (1990).

La comparación de las cadenas ligeras amiloidógenas y no amiloidógenas ha revelado que las anteriores pueden incluir reemplazos o sustituciones que parecen desestabilizar el plegamiento de la proteína y promover la agregación. AL y LCDD han sido distinguidas de otras enfermedades amiloides debido a su relativamente pequeña población de cadenas ligeras monoclonales, o sus fragmentos, que se producen mediante la expansión neoplásica de un linfocito B productor de anticuerpos. Los agregados de AL habitualmente son fibrillas bien ordenadas de cadenas lambda, Siendo una mayoría kappa, en algunos casos kIV. Bellotti y cols., JOURNAL OF STRUCTURAL BIOLOGY 13: 80-89 (2000). La comparación de las cadenas pesadas amiloidógenas y no amiloidógenas en pacientes que tienen amiloidosis AH ha revelado componentes que faltan y/o alterados. Eulitz y cols. PROC. NATL. ACAD. SCI. USA

87: 6542-46 (1990) (cadena pesada patógena caracterizada por una masa molecular significativamente menor que las cadenas pesadas no amiloidógenas); y Solomon y cols. AM J HEMAT 45 (2) 171-6 (1994) (cadenas pesadas amiloidógenas caracterizadas porque están constituidas únicamente por la porción VH-D de la cadena pesada no amiloidógena).

Por consiguiente, los procedimientos potenciales para detectar y controlar el tratamiento de sujetos con riesgo de tener AL, LCDD, AH y similares, incluyen pero sin limitación, inmunoensayos de plasma u orina para determinar la presencia o la menor precipitación de cadenas ligeras o pesadas amiloidógenas, por ejemplo, amiloide λ , amiloide κ , amiloide kIV, amiloide γ o amiloide $\gamma 1$.

Amiloidosis cerebral

El tipo más frecuente de amiloide en el cerebro está compuesto principalmente de fibrillas del péptido A β , que provoca demencia asociada a enfermedad de Alzheimer esporádica (no hereditaria). De hecho, la incidencia de enfermedad de Alzheimer esporádica supera con mucho a las formas que se ha demostrado que son hereditarias. Sin embargo, los péptidos de las fibrillas que forman placas son muy similares en ambos tipos. La amiloidosis cerebral incluye las enfermedades, afecciones, patologías y otras anormalidades de la estructura o función del cerebro, que incluye sus componentes, en los que el agente causal es el amiloide. El área del cerebro afectada en una enfermedad relacionada con amiloide puede ser el estroma que incluye la vasculatura o el parénquima que incluye regiones funcionales o anatómicas o las neuronas en sí. No es necesario que un sujeto haya sido diagnosticado definitivamente de una enfermedad relacionada con amiloide específica. El término "enfermedad relacionada con amiloide" incluye amiloidosis cerebral.

El péptido amiloide A β ("A β ") es un péptido de 39-43 aminoácidos derivado mediante proteólisis de una proteína grande conocida como Proteína precursora de amiloide beta (" β APP"). Las mutaciones en β APP provocan formas familiares de enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, angiopatía amiloide cerebral y demencia senil. Caracterizadas por la precipitación cerebral de placas compuestas por fibrillas de A β y otros componentes, que se describen en mayor detalle más adelante. Las mutaciones conocidas en APP asociadas a la enfermedad de Alzheimer se producen cerca de los sitios de escisión de la β o la γ -secretasa, o en el interior de A β . Por ejemplo, la posición 717 está cercana al sitio de la escisión por la secretasa gamma de APP en su procesamiento a A β , y las posiciones 670/671 están cerca del sitio de la escisión por la secretasa β . Las mutaciones en cualquiera de estos restos puede provocar la enfermedad de Alzheimer, presumiblemente al provocar un aumento en la cantidad de la forma de 42/43 aminoácidos de A β generada a partir de APP. La forma familiar de la enfermedad de Alzheimer representa únicamente el 10% de la población de sujetos. La mayor parte de los casos de enfermedad de Alzheimer son casos esporádicos en los que ni APP ni A β poseen ninguna mutación. La estructura y la secuencia de los péptidos A β de diversas longitudes son notorias en la técnica. Dichos péptidos pueden fabricarse de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica o pueden extraerse del cerebro de acuerdo con procedimientos conocidos (por ejemplo, Glenner y Wong *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 129, 885-90 (1984); Glenner y Wong, *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 122, 1131-35 (1984)). Además, hay diversas formas de los péptidos disponibles comercialmente. La APP se expresa y se cataboliza de forma constitutiva en la mayoría de las células. La ruta catabólica dominante parece ser la escisión de APP en la secuencia de A β mediante una enzima que se ha denominado provisionalmente secretasa α , que provoca la liberación de un fragmento de ectodominio soluble, conocido como APPs α . Esta escisión impide la formación del péptido A β . Al contrario que en esta ruta no amiloidógena, la APP también puede ser escindida por enzimas conocidas como secretasa β y γ en los extremos N y C de A β , respectivamente, seguido de liberación A β en el espacio extracelular. Hasta la fecha, se ha identificado BACE como secretasa β (Passer, y cols., *Science* 286: 735-741, 1999) y las preselininas han sido implicadas en la actividad de la secretasa γ (De Strooper, y cols., *Nature* 391, 387-90 (1998)). El péptido A β de 39-43 aminoácidos se produce mediante escisión proteolítica secuencial de la proteína precursora de amiloide (APP) mediante las enzimas secretasas β y γ . Aunque A β 40 es la forma predominante producida, 5-7% del A β total existe en forma de A β 42 (Cappai y cols., *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31, 885-89 (1999)).

La longitud del péptido A β parece alterar dramáticamente sus propiedades bioquímicas y biofísicas. Específicamente, los dos aminoácidos adicionales en el extremo C de A β 42 son muy hidrófobos, lo que presumiblemente aumenta la propensión de A β 42 a agregarse. Por ejemplo, Jarrett, y cols. demostraron que A β 42 se agrega muy rápidamente *in vitro* comparado con A β 40, lo que sugiere que las formas más largas de A β pueden ser las proteínas patológicas importantes que están implicadas en la siembra inicial de las placas neuríticas en la enfermedad de Alzheimer (Jarrett, y cols., *Biochemistry* 32, 4693-97 (1993); Jarret y cols., *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 695, 144-48 (1993)). Esta hipótesis se ha sustanciado adicionalmente por el reciente análisis de las contribuciones de formas específicas de A β en los casos de formas familiares genéticas de la enfermedad de Alzheimer ("FAD"). Por ejemplo, la forma mutante de APP "London" (APPV717I) unida a FAD aumenta selectivamente la producción de las formas de A β 42/43 comparado con A β 40 (Suzuki, y cols., *Science* 264, 1336-40 (1994)) mientras que la forma mutante "Swedish" de APP (APPK670N/M671L) aumenta los niveles tanto de A β 40 como de A β 42/43 (Citron, y cols., *Nature* 360, 672-674 (1992); Cai, y cols., *Science* 259, 514-16, (1993)). También se ha observado que las mutaciones ligadas a FAD de los genes Presenilina-1 ("PS1") o Presenilina-2 ("PS2") provocarán un aumento selectivo de la producción de A β 42/43 pero no de A β 40 (Borchelt, y cols., *Neuron* 17, 1005-13 (1996)). Este hallazgo fue corroborado en modelos de ratones transgénicos que expresaban mutantes de PS que demuestra un aumento selectivo en el A β 42 cerebral (Borchelt, referencia anterior; Duff, y cols., *Neurodegeneration* 5(4), 293-98 (1996)). Así, la hipótesis principal sobre la etiología de la enfermedad de Alzheimer es que un aumento en la concentración cerebral de A β 42 debida a una mayor producción

y liberación de A β 42 o a un descenso del aclaramiento (degradación o aclaramiento cerebral) es un evento causal en la patología de la enfermedad.

Se han identificado múltiples sitios de mutación o bien en el gen A β o en el APP y se han asociado clínicamente o bien con demencia o con la hemorragia cerebral. Los trastornos de CAA ejemplares incluyen, pero sin limitación, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis de tipo islandés (HCHWA-I); la variante holandesa de HCHWA (HCHWA-D; una mutación de A β); la mutación flamenca de A β ; la mutación ártica de A β ; la mutación italiana de A β ; la mutación de Iow de A β ; demencia familiar británica; y demencia familiar danesa. La CAA también puede ser esporádica.

Tal como se usa en la presente memoria, los términos “ β amiloide”, “amiloide β ” y similares se refieren a proteínas o péptidos amiloide β , a proteínas o péptidos precursoras de amiloide β , intermedios y sus modificaciones y fragmentos, a no ser que se indique específicamente lo contrario. En particular, “A β ” se refiere a cualquier péptido producido por el procesamiento proteolítico del producto génico APP, especialmente los péptidos que se asocian a patologías de amiloide, que incluyen A β 1-39, A β 1-40, A β 1-41, A β 1-42 y A β 1-43. Para mayor facilidad de nomenclatura, “A β 1-42” puede denominarse “A β (1-42)” o simplemente “A β 42” o “A β ₄₂” en la presente memoria (al igual que cualquier otro péptido amiloide descritos en la presente memoria). Tal como se usa en la presente memoria, los términos “ β amiloide”, “amiloide β ” y “A β ” son sinónimos.

A no ser que se indique lo contrario, el término “amiloide” se refiere a proteínas, péptidos o sus fragmentos amiloidógenos que pueden ser solubles (por ejemplo, monoméricos u oligoméricos) o insolubles (por ejemplo que tengan estructura fibrilar o en placa amiloide). Véase, por ejemplo, MP Lambert, y cols., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 95, 6448-53 (1998). “Amiloidosis” o “enfermedad amiloide” o “enfermedad relacionada con amiloide” se refiere a una afección patológica caracterizada por la presencia de fibras de amiloide. “Amiloide” es un término general que se refiere a un grupo de depósitos de proteínas diversas pero específicas (intracelulares o extracelulares) que se observan en un número de diferentes enfermedades. Aunque son diversos en su aparición, todos los depósitos amiloides tienen propiedades morfológicas comunes, se tiñen con tintes específicos (por ejemplo, rojo del Congo) y tienen un aspecto birrefringente rojo y verde característico bajo luz polarizada después de teñir. También comparten características ultraestructurales comunes y espectros de difracción de rayos X e infrarrojos comunes.

La gelsolina es una proteína que se une a calcio que se une a fragmentos y filamentos de actina. Las mutaciones en las posiciones 187 (por ejemplo Asp $\rightarrow$ Asn; Asp $\rightarrow$ Tyr) de la proteína provocan una forma de amiloidosis sistémica hereditaria, que habitualmente se encuentra en pacientes de Finlandia, así como personas de origen holandés o japonés. En los individuos que la padecen, las fibrillas formadas a partir de fragmentos de gelsolina (Agel), habitualmente están formadas por los aminoácidos 173-243 (fragmento de 68 kDa del extremo carboxi) y se depositan en los vasos sanguíneos y en las membranas basales, lo que provoca distrofia corneal y neuropatía craneal que progresa a neuropatía diabética, cambios distróficos epiteliales y precipitación en otros órganos (Kangas, H. y cols. *Human Mol. Genet.* 5 (9): 1237-1243, 1996).

Otras proteínas mutadas, como por ejemplo la cadena alfa de fibrinógeno mutada (AfibA) y cistatina C mutante (Acys) también forman fibrillas y producen trastornos hereditarios característicos. Las fibrillas AfibA forman depósitos característicos de un amiloide hereditario no neuropático con enfermedad renal; los depósitos de Acys son característicos de un angiopatía amiloide cerebral hereditaria reseñada en Islandia (Isselbacher, *Harrison's Principles of Internal Medicine*, McGraw-Hill, San Francisco, 1995; Benson y cols.). Al menos en algunos casos, los pacientes con angiopatía amiloide cerebral (CAA) han demostrado tener fibrillas de amiloide que contienen una forma no mutante de cistatina C junto con la proteína amiloide beta (Nagai, A. y cols., *Molec. Chem. Neuropathol.* 33: 63-78, 1998).

Ahora se considera que ciertas formas de enfermedades por priones son hereditarias, suponen hasta el 15% de los casos, que anteriormente se pensó que eran de naturaleza predominantemente infecciosa. (Baldwin, y cols. en *Research Advances in Alzheimer's Disease and Related Disorders*, John Wiley and Sons, Nueva Cork, 1995). En los trastornos provocados por priones hereditarios y esporádicos, los pacientes desarrollan placas compuestas por isoformas anormales de la proteína criónica normal (PrP^{Sc}).

Una isoforma mutante predominante, PrP^{Sc}, también denominada AScr, difiere de la proteína celular normal en su resistencia a la degradación por proteasas, insolubilidad después de la extracción con detergente, precipitación en lisosomas secundarios, síntesis postraduccional y alto contenido en lámina β plegada. Se ha establecido relación genética para al menos cinco mutaciones que provocan enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD); síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS) e insomnio familiar mortal (FFI). (Baldwin, referencia anterior). Los procedimientos para extraer péptidos fibrilares de las fibrillas de la encefalopatía espongiiforme ovina, para determinar las secuencias y para fabricar dichos péptidos son conocidos en la técnica (por ejemplo, Beekes, M. y cols. *J. Gen. Virol.* 76: 2567-76, 1995).

Por ejemplo, una forma de GSS se ha relacionado con una mutación en PrP en el codón 102, mientras que GSS telencefálica se segrega con una mutación en el codón 117. Las mutaciones en los codones 198 y 217 provocan una forma de GSS en la que las placas neuríticas características de la enfermedad de Alzheimer contienen PrP en lugar de péptido A β . Ciertas formas de CJD familiar se han asociado a mutaciones en los codones 200 y 210; se han encontrado mutaciones en los codones 129 y 178 tanto en CJD como en FFL familiares (Baldwin, referencia anterior).

Amiloidosis cerebral

La precipitación local de amiloide es habitual en el cerebro, en particular en los individuos mayores. El tipo más frecuente de amiloide en el cerebro está compuesto principalmente por fibrillas de péptidos A β , lo que provoca demencia o enfermedad de Alzheimer esporádica (no hereditaria). Las apariciones más habituales de amiloidosis cerebral son esporádicas, no familiares. Por ejemplo, la incidencia de enfermedad de Alzheimer esporádica y de CAA esporádica excede en mucho la incidencia de AD y CAA familiares. Además, las formas esporádicas y familiares de la enfermedad no pueden distinguirse entre sí (únicamente difieren por la presencia o ausencia de una mutación genética heredada); por ejemplo, los síntomas clínicos y las placas de amiloide que se forman tanto en la AD esporádica como familiar son muy similares, si no idénticas.

Angiopatía amiloide cerebral (CAA) se refiere a la precipitación específica de fibrillas amiloides en las paredes de las arterias, arteriolas y venas leptomenígeas y corticales. Habitualmente está asociada a la enfermedad de Alzheimer, al síndrome de Down y al envejecimiento normal, así como a una variedad de afecciones familiares relacionadas con la apoplejía o la demencia (véase Frangione y cols., Amyloid: J. Protein Holding Disord. 8, Supl. 1, 36-42 (20001)). La CAA puede producirse de forma esporádica o hereditaria.

Amiloidosis sistémica senil

La precipitación de amiloide, ya sea sistémica o local, aumenta con la edad. Por ejemplo, las fibrillas de la transretina salvaje (TTR) se encuentran habitualmente en el tejido coronario de los individuos mayores. Esta puede ser asintomática, clínicamente asintomática, o puede provocar insuficiencia cardíaca. Los depósitos focales fibrilares asintomáticos pueden darse también en el cerebro (A β), cuerpos amiláceos de la próstata (microglobulina β_2), articulaciones y vesículas seminales.

Amiloidosis relacionada con la diálisis (DRA)

Habitualmente los pacientes que reciben hemodiálisis durante un periodo largo o diálisis peritoneal desarrollan placas compuestas por fibrillas de microglobulina β_2 (β_2 M). La microglobulina β_2 es un polipéptido de 11,8 kilodaltons y es la cadena ligera de los antígenos MHC de clase I, que están presentes en todas las células nucleadas. En circunstancias normales, β_2 M habitualmente está distribuida en el espacio extracelular a no ser que exista una disfunción renal, en cuyo caso la β_2 M se transporta a los tejidos en los que se polimeriza formando fibrillas de amiloide. Cuando no se consigue el aclaramiento como por ejemplo en el caso de la disfunción renal, se produce la precipitación en el túnel carpiano y otros sitios (principalmente en tejidos ricos en colágeno de las articulaciones). Al contrario que con otras proteínas de las fibrillas, las moléculas de β_2 M no se producen por escisión de una proteína precursora más larga y generalmente están presentes en forma no fragmentada en las fibrillas. (Benson, referencia anterior). Se ha demostrado que la retención y acumulación de este precursor de amiloide es el proceso patógeno principal que subyace la DRA. La DRA se caracteriza por osteoartropatía de las articulaciones periféricas (por ejemplo, rigidez en las articulaciones, dolor, hinchazón, etc.). Las isoformas de β_2 M, β_2 M glicada o los polímeros de β_2 M en el tejido son la forma más amiloidógena (al contrario que con β_2 M nativa). Al contrario que con otros tipos de amiloidosis, la β_2 M está confinada en gran medida a los sitios osteoarticulares. Las deposiciones viscerales son raras. Ocasionalmente, estos depósitos pueden afectar a los vasos sanguíneos y a otros sitios anatómicos importantes.

A pesar de los procedimientos de diálisis mejorados para eliminar β_2 M, la mayoría de los pacientes presentan concentraciones de β_2 M en plasma que permanecen dramáticamente superiores a lo normal. Estas concentraciones elevadas de β_2 M provocan amiloidosis relacionada con la diabetes (DRA) y comorbilidades que contribuyen a la mortalidad.

Polipéptido amiloide en los islotes y diabetes

La hialinosis de los islotes (precipitación de amiloide) se describió por vez primera hace más de un siglo como la presencia de agregados proteínicos fibrosos en el páncreas de pacientes con hiperglucemia grave (Opie, EL., J. Exp. Med. 5: 397-428, 1901). Actualmente, el amiloide de los islotes, compuesto predominantemente por polipéptido amiloide de los islotes (IAPP), o amilina, es un marcador histopatológico característico en más del 90% de todos los casos de diabetes de tipo II (también conocida como diabetes no insulino dependiente, o NIDDM). Estas acumulaciones fibrilares se producen por la agregación del polipéptido amiloide de los islotes (IAPP), o amilina que es un péptido de 37 aminoácidos, derivado de un péptido precursor mayor, denominado pro-IAPP.

El IAPP se segrega concomitantemente con la insulina como respuesta a segretagogos de las células β . Esta característica patológica no está asociada a la diabetes insulino dependiente (tipo I) y es una característica unificadora para los fenotipos clínicos heterogéneos que se diagnostican como NIDDM (diabetes de tipo II).

Los estudios longitudinales en los gatos y las investigaciones inmunohistoquímicas en los monos han demostrado que un aumento progresivo en el amiloide de los islotes está asociado a un descenso dramático de la población de células β que segregan insulina y una mayor gravedad de la enfermedad. Más recientemente, los estudios transgénicos

han reforzado la relación entre la formación de placas de IAPP y la apoptosis y disfunción de células β , lo que indica que la precipitación de amiloide es un factor principal para aumentar la gravedad de la diabetes de tipo II.

También se ha demostrado que IAPP induce toxicidad en los islotes β *in vitro*, lo que indica que la aparición de fibrillas de IAP en el páncreas de los pacientes con diabetes de tipo II o de tipo I (después del trasplante de islotes) podría contribuir a la pérdida de los islotes de células β (Langerhans) y a la disfunción del órgano. En los pacientes con diabetes de tipo II, la acumulación de IAPP pancreático provoca la formación de IAPP oligomérico, que provoca una acumulación de IAPP y amiloide en forma de depósitos fibrosos insolubles que finalmente destruyen las células β productoras de insulina del islote, provocando una pérdida de células β e insuficiencia (Westermarck, P., Grimelius, L. *Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A.* 81: 291-300, 1973; de Koning, EJP., y cols. *Diabetología* 36: 378-384, 1993; y Lorenzo, A. y cols., *Nature* 368: 756-760, 1994). La acumulación de IAPP en forma de depósitos fibrosos también puede tener un impacto sobre la proporción entre pro-IAPP y IAPP que se encuentra normalmente en el plasma al aumentar esta proporción debido al atrapamiento de IAPP en los depósitos. La reducción de la masa de células β puede manifestarse por hiperglucemia e insulopenia. Esta pérdida de masa de células β puede provocar que sea necesario el tratamiento con insulina.

Las enfermedades provocadas por la muerte o mal funcionamiento de un tipo o tipos de células particulares pueden tratarse transplantando células sanas del tipo relevante de célula al paciente. Esta estrategia se ha empleado en paciente con diabetes de tipo I. A menudo se cultivan células de los islotes pancreáticos de un donante *in vitro* antes del trasplante, para permitir que se recuperen después del procedimiento de aislamiento o para reducir su capacidad inmunógena. Sin embargo, en muchos casos, el trasplante de islotes no tiene éxito, debido a la muerte de las células transplantadas. Una razón para esta deficiente tasa de éxito es IAPP, que se organiza en forma de oligómeros tóxicos. Los efectos tóxicos pueden producirse por la acumulación intracelular y extracelular de oligómeros de fibrillas. Los oligómeros de IAPP pueden formar fibrillas y volverse tóxicos para las células *in vitro*. Además, es probable que las fibrillas de IAPP continúen creciendo después de que las células se trasplantan y provocan la muerte o disfunción de las células. Esto puede producirse incluso cuando las células son de un donante sano y el paciente que recibe el trasplante no tiene la enfermedad que se caracteriza por la presencia de fibrillas. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden usarse también para preparar tejidos o células para el trasplante de acuerdo con los procedimientos que se describen en la solicitud de patente internacional (PCT) número WO 01/003680.

Los compuestos de la invención pueden estabilizar también la proporción de las concentraciones de Pro-IAPP/IAPP, pro-Insulina/Insulina y los niveles de péptido C. Además, como marcadores biológicos de la eficacia, podrían usarse los resultados de las diferentes pruebas, como por ejemplo la prueba de secreción de arginina e insulina, la prueba de tolerancia de la glucosa, las pruebas de tolerancia y sensibilidad a la insulina como marcadores de la menor masa de células β y/o de la acumulación de depósitos de amiloide. Dicha clase de fármacos podría usarse junto con otros fármacos dirigidos contra la resistencia a la insulina, a la producción de glucosa hepática y a la secreción de insulina. Dichos compuestos pueden evitar la insulino terapia al preservar la función de las células β y pueden ser aplicables para preservar los trasplantes de islotes.

Amiloidosis derivada de hormonas

Los órganos endocrinos pueden albergar depósitos de amiloide, en particular en individuos de más edad. Los tumores que segregan hormonas pueden contener también placas de amiloide derivado de hormonas, cuyas fibrillas están formadas por hormonas de polipéptidos como por ejemplo calcitonina (carcinoma medular de tiroides), y péptido natriurético auricular (amiloidosis auricular aislada). Las secuencias y estructuras de estas proteínas son notorias en la técnica.

Amiloidosis miscelánea

Existe una variedad de otras formas de enfermedad amiloide que normalmente se manifiestan en forma de depósitos localizados de amiloide. En general, estas enfermedades son probablemente provocadas por la producción localizada o de la falta de catabolismo o de precursores de fibrillas específicos o de la predisposición de un tejido particular (como por ejemplo la articulación) a la precipitación de fibrillas. Los ejemplos de dicha precipitación idiomática incluyen amiloide AL nodular, amiloide cutáneo, amiloide endocrino y amiloide relacionado con tumores. Otras enfermedades relacionadas con amiloide incluyen las que se describen en la Tabla 1, tales como polineuropatía amiloide familiar (FAP), amiloidosis sistémica senil, tenosinovitis, amiloidosis familiar, amiloidosis no neuropática de tipo Östertag, neuropatía craneal, hemorragia cerebral hereditaria, demencia familiar, diálisis crónica, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob familiar; síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker, encefalopatías espongiiformes hereditarias, enfermedades por priones, fiebre mediterránea familiar, síndrome de Muckle-Well, neuropatía, sordera, urticaria, dolor en los miembros, cardiomiopatía, depósitos cutáneos, mieloma múltiple, gammopatía monoclonal benigna, macroglobulinemia, amiloidosis asociada a mieloma, carcinomas medulares de tiroides, amiloide auricular aislado y diabetes.

Las formulaciones de la invención pueden administrarse de forma terapéutica o profiláctica para tratar las enfermedades asociadas a la formación, agregación o precipitación de fibrillas de amiloide, independientemente del entorno clínico tal como se especifica en las reivindicaciones anexas. Las formulaciones de la invención pueden actuar mejorando el curso de una enfermedad relacionada con amiloide usando cualquiera de los siguientes mecanismos, como

por ejemplo pero sin limitación: ralentizar la velocidad de la formación o precipitación de fibrillas de amiloide; disminuir el grado de la precipitación de amiloide; inhibir, reducir o prevenir la formación de fibrillas de amiloide; inhibir la inflamación inducida por amiloide; potenciar el aclaramiento de amiloide del cerebro, por ejemplo; o proteger la células de la toxicidad inducida por amiloide (oligómeros o fibrillas).

En una realización, las formulaciones de la invención pueden administrarse de forma terapéutica o profiláctica para tratar las enfermedades asociadas a la formación, agregación o precipitación de fibrillas de amiloide β , tal como se especifica en las reivindicaciones anexas. Los compuestos de la invención pueden actuar mejorando el curso de una enfermedad relacionada con amiloide β usando cualquiera de los siguientes mecanismos (esta lista se pretende que sea ilustrativa y no limitante): ralentizar la velocidad de la formación o precipitación de fibrillas de amiloide β ; disminuir el grado de la precipitación de amiloide β ; inhibir, reducir o prevenir la formación de fibrillas de amiloide β ; inhibir la neurodegeneración o la toxicidad celular inducida por amiloide β ; inhibir la inflamación inducida por amiloide β ; potenciar el aclaramiento de amiloide β del cerebro, por ejemplo; o favorecer un mayor catabolismo de $A\beta$.

Las formulaciones de la invención pueden ser eficaces para controlar la precipitación de amiloide β ya sea después de que haya entrado en el cerebro (tras penetrar a través de la barrera hematoencefálica) o de de la periferia. Cuando actúa desde la periferia, un compuesto puede alterar el equilibrio de $A\beta$ entre el cerebro y el plasma de forma que favorezca la salida de $A\beta$ del cerebro. Un aumento de la salida de $A\beta$ del cerebro provocaría un descenso en la concentración de $A\beta$ y por lo tanto favorecería el descenso de la precipitación de $A\beta$. Además, los compuestos que atraviesan el cerebro pueden controlar la precipitación actuando directamente sobre el $A\beta$ del cerebro, por ejemplo, manteniéndolo en forma no fibrilar o favoreciendo su aclaramiento del cerebro. Los compuestos pueden ralentizar el procesamiento a APP; pueden aumentar la degradación de las fibrillas de $A\beta$ por lo macrófagos o las células neuronales; o pueden aumentar la producción de $A\beta$ por la microglía activada. Estos compuestos también podrían prevenir que el $A\beta$ del cerebro interactuara con la superficie celular y por lo tanto prevendría la neurotoxicidad, la neurodegeneración o la inflamación.

En una realización preferida, la formulación puede usarse para tratar la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo AD esporádica o familiar). También pueden usarse de forma profiláctica o terapéutica para tratar otras formas clínicas de precipitación de amiloide β , como por ejemplo en los individuos con síndrome de Down y en pacientes con angiopatía amiloide cerebral ("CAA"), hemorragia cerebral hereditaria o enfermedad de Alzheimer temprana.

En otra realización, se usan las formulaciones para tratar el deterioro cognitivo. El deterioro cognitivo leve ("MCI") es una afección caracterizada por un estado de deterioro leve pero cuantificable de las destrezas mentales, que no está asociado necesariamente a la presencia de demencia. El MCI con frecuencia, pero no necesariamente, precede a la enfermedad de Alzheimer.

Además, la acumulación anormal de APP y de proteína amiloide β en las fibras musculares ha sido implicada en la patología de miositis con cuerpos de inclusión esporádica (IBM) (Askanas, V., y cols.(1996) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 93: 1314-1319; Askanas V. y cols. (1995) *Current Opinión in Rheumatology* 7: 486-496). Por consiguiente, los compuestos de la invención pueden usarse de forma profiláctica o terapéutica en el tratamiento de trastornos en los que la proteína amiloide β se deposita de forma anormal en zonas no neurológicas, como por ejemplo el tratamiento de IBM mediante la administración de los compuestos a las fibras musculares.

Además, se ha demostrado que $A\beta$ está asociado a depósitos extracelulares anormales, conocidos como drusas, que se acumulan a lo largo de la superficie basal del epitelio pigmentado retiniano en individuos con degeneración macular relacionada con la edad (ARMD). La ARMD es causa de pérdida de visión irreversible en los individuos mayores. Se cree que la precipitación de $A\beta$ podría ser un componente importante de los eventos inflamatorios locales que contribuyen a la atrofia del epitelio pigmentado retiniano, a la biogénesis de las drusas y a la patogénesis de ARMD (Johnson, y cols., *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 99 (18), 11830-5 (2002)).

En otra realización, la invención también se refiere a una formulación para usar en prevenir una enfermedad relacionada con amiloide tal como se especifica en las reivindicaciones anexas en un sujeto (preferiblemente un ser humano) que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéutica de dicha formulación, de tal forma que se reduzca o inhiba la formación o precipitación de fibrillas de amiloide, neurodegeneración o toxicidad celular. En otra realización, la invención se refiere a una formulación para usar en el tratamiento o prevención de una enfermedad relacionada con amiloide en un sujeto (preferiblemente un ser humano), que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéutica de dicha formulación, de tal forma que se mejore o establezca la función cognitiva o se prevenga, ralentice o detenga la función cognitiva que, por ejemplo, tienen enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down o angiopatía amiloide cerebral. Estos compuestos también pueden aumentar la calidad de vida de estos sujetos.

II. Usos de la formulación de la invención

En una realización, la invención incluye una formulación para usar para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto que comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de una formulación terapéutica que comprende un compuesto terapéutico, de tal forma que se inhiba la precipitación de amiloide, tal como se especifica en las reivindicaciones anexas.

Las formulaciones de la invención pueden administrarse de forma profiláctica o terapéutica para tratar enfermedades asociadas con la formación de fibrillas de amiloide β , la agregación o precipitación tal como se especifica en las reivindicaciones anexas. Las formulaciones de la invención pueden actuar mejorando el curso de una enfermedad relacionada con amiloide β tal como se especifica en las reivindicaciones anexas, usando cualquiera de los siguientes

5 mecanismos (esta lista se pretende que sea ilustrativa y no limitante): ralentizar la velocidad de la formación o precipitación de fibrillas de amiloide β ; disminuir el grado de la precipitación de amiloide β ; inhibir, reducir o prevenir la formación de fibrillas de amiloide β ; inhibir la neurodegeneración o la toxicidad celular inducida por amiloide β ; inhibir la inflamación inducida por amiloide β ; potenciar el aclaramiento de amiloide β del cerebro.

10 Las formulaciones de la invención pueden ser eficaces para controlar la precipitación de amiloide β ya sea después de que haya entrado en el cerebro (tras penetrar a través de la barrera hematoencefálica) o de de la periferia. Sin desear comprometerse con la teoría, cuando actúa desde la periferia, el compuesto de una formulación de la invención puede alterar el equilibrio de $A\beta$ entre el cerebro y el plasma de forma que favorezca la salida de $A\beta$ del cerebro. Un aumento de la salida de $A\beta$ del cerebro provocaría un descenso en la concentración de $A\beta$ y por lo tanto favorecería

15 el descenso de la precipitación de $A\beta$. De forma alternativa, los compuestos de una formulación de la invención que atraviesan el cerebro podrían controlar la precipitación actuando directamente sobre el $A\beta$ del cerebro, por ejemplo, manteniéndolo en forma no fibrilar o favoreciendo su aclaramiento del cerebro, o protegiendo a las células del cerebro del efecto perjudicial de $A\beta$. En otra realización, el compuesto también puede prevenir que la proteína amiloide, en su forma soluble, oligomérica o fibrilar, se una o adhiera a una superficie celular y provoque daños o toxicidad

20 a las células.

En una realización particular, la formulación puede usarse para tratar la enfermedad de Alzheimer (por ejemplo AD esporádica o familiar). También pueden usarse de forma profiláctica o terapéutica para tratar otras formas clínicas de precipitación de amiloide β , como por ejemplo en los individuos con síndrome de Down y en pacientes con angiopatía

25 amiloide cerebral (“CAA”), hemorragia cerebral hereditaria.

En ciertas realizaciones, la formulación terapéutica de la invención puede inhibir una interacción entre una proteína amiloidógena y un constituyente de una membrana basal, por ejemplo, una glucoproteína o un proteoglucano, inhibiendo así la precipitación de amiloide. La capacidad de un compuesto terapéutico de la invención de inhibir la

30 interacción entre una proteína amiloidógena y un componente de glucoproteína o proteoglucano de una membrana basal puede evaluarse mediante un ensayo de unión *in vitro*, tal como el ensayo de espectroscopia de masas que se describe en la presente memoria (Ejemplo 5) o en la patente de Estados Unidos n.º 5.164.295.

Además, una realización de la invención es una formulación para reducir los depósitos de amiloide, en un sujeto

35 que presenta depósitos amiloides tal como se especifica en las reivindicaciones anexas.

Otra realización de la invención se refiere a una formulación para usar en la prevención, tratamiento o inhibición de angiopatía amiloide cerebral en un sujeto, que comprende administrar una formulación terapéutica de la invención al sujeto. Asimismo, la invención incluye una formulación para usar en la prevención, tratamiento o inhibición de

40 angiopatía amiloide cerebral en un sujeto, que comprende poner en contacto una célula de las paredes de un vaso sanguíneo con una formulación terapéutica de la invención, de tal forma que se prevenga, trate o inhiba la angiopatía amiloide cerebral. Además, la invención incluye una formulación para usar en la prevención, tratamiento o inhibición de angiopatía amiloide cerebral en un sujeto, que comprende poner en contacto una célula de las paredes de un vaso sanguíneo con una formulación terapéutica de la invención, de tal forma que se prevenga, trate o inhiba la angiopatía

45 amiloide cerebral.

La expresión “inhibición de la precipitación de amiloide” incluye reducir, prevenir o detener la formación de amiloide, por ejemplo fibrillogénesis, inhibir o ralentizar la precipitación de más amiloide en un sujeto con amiloidosis que, por ejemplo, ya tiene depósitos amiloides, y reducir o invertir la fibrillogénesis o los depósitos amiloides en un

50 sujeto con amiloidosis en curso. Por ejemplo, la extensión de la inhibición de amiloide en la presente solicitud de patente se contempla en términos de un intervalo, que puede incluir, por ejemplo, la eliminación sustancialmente completa de la precipitación de amiloide o la reducción de la precipitación de amiloide. La inhibición de la precipitación de amiloide se determina relativa a un sujeto sin tratar, o relativa al sujeto tratado antes del tratamiento o, por ejemplo, se determina mediante la mejora clínicamente cuantificable de la función pancreática en un paciente diabético,

55 o en el caso de un paciente con amiloidosis cerebral, por ejemplo, un paciente de angiopatía amiloide cerebral o de Alzheimer, por la estabilización de la función cognitiva o la prevención de un deterioro adicional de la función cognitiva (es decir, prevenir, ralentizar o detener el progreso de la enfermedad), o la mejora de parámetros tales como la concentración de $A\beta$ o tau en el LCE. En ciertas realizaciones, la precipitación de amiloide puede inhibirse, por ejemplo, inhibiendo una interacción entre una proteína amiloidógena y un constituyente de una membrana basal, mejorando el aclaramiento de amiloide β del cerebro, o inhibiendo la neurodegeneración o la toxicidad celular inducidas por amiloide (por ejemplo, por amiloide soluble o insoluble, por ejemplo, fibrillas, por la precipitación de amiloide y/o de amiloide β , tal como se describe en la presente memoria) o protegiendo las células cerebrales del efecto

60 perjudicial de $A\beta$.

La expresión “membrana basal” se refiere a una matriz extracelular que comprende glucoproteínas y proteoglucanos, que incluyen laminina, colágeno de tipo IV, fibronectina, agrina, perlecan y proteoglucano heparan sulfato (HSPG). En una realización, la precipitación de amiloide es inhibida al interferir con una interacción entre una proteína amiloidógena y un glucosaminoglucano sulfatado como por ejemplo HSPG. Es sabido que los glucosaminoglucanos

sulfatados están presentes en todos los tipos de amiloides (véase Snow, A.D., y cols. Lab. Invest. 56, 120-123 (1987)) y precipitación de amiloide y la precipitación de HSPG se produce de forma coincidente en modelos animales de amiloidosis (véase Snow, A.D., y cols. Lab. Invest. 56, 665-675 (1987)).

5 Tal como se usa en la presente memoria, “tratamiento” de un sujeto incluye la aplicación o administración de una composición de la invención a un sujeto, o la aplicación administración de una composición de la invención a una célula o tejido de un sujeto, que tiene una enfermedad o afección relacionada con (véase Snow, A.D., y cols. Lab. Invest. 56, 120-123 (1987)), tiene un síntoma de dicha enfermedad o afección, o presenta riesgo (o es susceptible) a dicha enfermedad o afección, con el fin de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, mejorar, restablecer o afectar a la enfermedad o afección, el síntoma de la enfermedad o afección, o el riesgo (o susceptibilidad) a la enfermedad o afección. El término “tratar” se refiere a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología o afección, que incluye cualquier parámetro objetivo o subjetivo como por ejemplo limitación, remisión, disminución de síntomas o hacer que la lesión, patología o afección sea más tolerable para el sujeto; ralentizar la velocidad de degeneración o declive; hacer que el punto final de la degeneración sea menos debilitante; mejorar el bienestar físico o mental de un sujeto; o, en algunas situaciones, prevenir el inicio de la demencia. El tratamiento o mejora de los síntomas puede basarse en parámetros objetivos o subjetivos; que incluyen los resultados de un examen físico, una evaluación psiquiátrica, o una prueba de cognición como por ejemplo CDR, MMSE, ADAS-Cog, u otra prueba conocida en la técnica. Por ejemplo, las formulaciones de la invención tratan con éxito la demencia de un sujeto al ralentizar la velocidad o reducir la cantidad del declive cognitivo.

20 En una realización, el término “tratar” incluye mantener la puntuación en el CDR de un sujeto a su nivel inicial o a 0. En otra realización, el término tratar incluye disminuir la puntuación en el CDR de un sujeto en aproximadamente 0,25 o más, aproximadamente 0,5 o más, aproximadamente 1,0 o más, aproximadamente 1,5 o más, aproximadamente 2,0 o más, aproximadamente 2,5 o más, aproximadamente 3,0 o más. En otra realización, el término “tratar” también incluye reducir la velocidad de aumento de la puntuación en el CDR de un sujeto comparando con controles históricos. En otra realización, el término incluye reducir la velocidad de aumento de la puntuación en el CDR de un sujeto en aproximadamente 5% o más, aproximadamente 10% o más, aproximadamente 20% o más, aproximadamente 25% o más, aproximadamente 30% o más, aproximadamente 40% o más, aproximadamente 50% o más, aproximadamente 60% o más, aproximadamente 70% o más, aproximadamente 80% o más, aproximadamente 100%, del aumento de los controles históricos o sin tratamiento.

35 En otra realización, el término “tratar” incluye mantener la puntuación en el MMSE de un sujeto. En otra realización, el término tratar incluye aumentar la puntuación en el MMSE de un sujeto en aproximadamente 1, aproximadamente 2, aproximadamente 3, aproximadamente 4, aproximadamente 5, aproximadamente 7,5, aproximadamente 10, aproximadamente 12,5, aproximadamente 15, aproximadamente 17,5, aproximadamente 20 o aproximadamente 25 puntos. El término también incluye reducir la velocidad de descenso de la puntuación en el MMSE de un sujeto comparando con controles históricos. En otra realización, el término incluye reducir la velocidad de descenso de la puntuación en el MMSE de un sujeto en aproximadamente 5% o más, aproximadamente 10% o menos, aproximadamente 20% o menos, aproximadamente 25% o menos, aproximadamente 30% o menos, aproximadamente 40% o menos, aproximadamente 50% o menos, aproximadamente 60% o menos, aproximadamente 70% o menos, aproximadamente 80% o menos, aproximadamente 100%, del descenso de los controles históricos o sin tratamiento.

45 Todavía en otra realización, el término “tratar” incluye mantener la puntuación en el ADAS-Cog de un sujeto a su nivel inicial o a 0. En otra realización, el término tratar incluye disminuir la puntuación en el ADAS-Cog de un sujeto en aproximadamente 1 punto o más, aproximadamente 2 puntos o más, aproximadamente 3 puntos o más, aproximadamente 4 puntos o más, aproximadamente 5 puntos o más, aproximadamente 7,5 puntos o más, aproximadamente 10 puntos o más, 12,5 puntos o más, aproximadamente 15 puntos o más, aproximadamente 17,5 puntos o más, aproximadamente 20 puntos o más o aproximadamente 25 puntos o más. El término también incluye reducir la velocidad de aumento de la puntuación en el ADAS-Cog de un sujeto comparando con controles históricos. En otra realización, el término incluye reducir la velocidad de aumento de la puntuación en el ADAS-Cog de un sujeto en aproximadamente 5% o más, aproximadamente 10% o más, aproximadamente 20% o más, aproximadamente 25% o más, aproximadamente 30% o más, aproximadamente 40% o más, aproximadamente 50% o más, aproximadamente 60% o más, aproximadamente 70% o más, aproximadamente 80% o más, aproximadamente 100%, del aumento de los controles históricos o sin tratamiento.

55 Sin desear quedar ligado a la teoría, en algunos aspectos, las composiciones farmacéuticas de la invención contienen un compuesto que previene o inhibe la formación de fibrillas de amiloide, ya sea en el cerebro o en otro órgano de interés (acción local) o por todo el organismo (actuación sistémica). Las composiciones farmacéuticas pueden ser eficaces para controlar la precipitación de amiloide ya sea después de su entrada en el cerebro (tras penetrar a través de la barrera hematoencefálica) o de la periferia. Cuando actúa desde la periferia, un compuesto puede alterar el equilibrio del péptido amiloidógeno entre el cerebro y el plasma de forma que favorezca la salida del péptido amiloidógeno del cerebro. También puede favorecer el aclaramiento (o catabolismo) de la proteína amiloide (soluble), y así prevenir la formación y la precipitación de fibrillas amiloides debido a la reducción de la reserva de proteína amiloide en un órgano específico, por ejemplo el Orebrio. Un aumento de la salida del péptido amiloidógeno del cerebro provocaría un descenso en la concentración de péptido amiloidógeno y por lo tanto favorecería el descenso de la precipitación de péptido amiloidógeno. En particular, un agente puede reducir los niveles de péptidos amiloides β , por ejemplo, tango de A β 40 como de A β 42 en el LCE y aumentarlo en plasma. De forma alternativa, los compuestos que penetran en el cerebro podrían controlar la precipitación actuando directamente sobre el péptido amiloidógeno del cerebro, por ejemplo,

manteniéndolo en forma no fibrilar o favoreciendo su aclaramiento del cerebro, aumentando su degradación en el cerebro, o protegiendo las células del cerebro del efecto perjudicial del péptido amiloidógeno. Un agente también puede provocar un descenso de la concentración de la proteína amiloide (es decir, en un órgano específico de forma que no se alcance la concentración crítica necesaria para desencadenar la formación o precipitación de fibrillas amiloides). Además, los compuestos que se describen en la presente memoria pueden inhibir o reducir una interacción entre amiloide y un constituyente de la superficie celular, por ejemplo, un constituyente glucosaminoglucano o proteoglucano de una membrana basal. Los compuestos también pueden prevenir que un péptido amiloide se una o se adhiera a una superficie celular, un proceso que se sabe provoca el daño o la toxicidad celular. De forma similar, los compuestos también pueden reducir la velocidad o la cantidad de agregación amiloide, la formación o precipitación de fibrillas, o los compuestos puede reducir el grado de precipitación de amiloides. Los mecanismos de acción anteriores no deben interpretarse como limitantes del alcance de la invención, en tanto en cuanto la invención puede practicarse sin dicha información.

El término “significativamente” o “significativo” describe los cambios en una propiedad identificada que se producen en cantidades o incrementos notables o cuantificables, o donde dichos cambios tendrían un impacto notable, cuantificable o inaceptable, por ejemplo, un efecto perjudicial. Como tal, la expresión “reducir o prevenir significativamente la intolerancia gastrointestinal” incluye una reducción o prevención notable o cuantificable de la intolerancia gastrointestinal, es decir, comparado con la situación en la que la reducción o prevención no es notable ni cuantificable. Por ejemplo, puede usarse el número de incidentes de náuseas, vómitos y dolor o irritación gastrointestinal asociados que se registra en función del tiempo para medir el impacto de las formulaciones terapéuticas de la presente invención sobre la reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal. Además, la expresión “no afectan significativamente la capacidad de la formulación terapéutica” describe elementos que afectan a la capacidad de la formulación terapéutica, pero no afectan a la capacidad de forma inaceptable hasta el punto de que el coste supera al beneficio, y por lo tanto no “afectan significativamente” a la capacidad de la formulación farmacéutica.

“Modulación de la precipitación de amiloide” incluye tanto la inhibición, tal como se define anteriormente, como la mejora de la precipitación de amiloide o de la formación de fibrillas. El término “modulación”, por lo tanto, se pretende que englobe 1) prevención o detención de la formación o acumulación de amiloide, inhibición o ralentización de la agregación adicional de amiloide en un sujeto con amiloidosis en curso, por ejemplo, que ya presenta agregaciones de amiloide y reducir o revertir agregados amiloides en un sujeto con amiloidosis en curso; y 2) potenciar la precipitación de amiloide, por ejemplo, aumentar la velocidad o cantidad de precipitación de amiloide *in vivo* o *in vitro*. Los compuestos que potencian los amiloides pueden ser útiles en modelos animales de amiloidosis, por ejemplo, para posibilitar el desarrollo de depósitos de amiloide en los animales en un periodo de tiempo menor o para aumentar los depósitos de amiloide durante un periodo de tiempo seleccionado. Los compuestos que potencian los amiloides pueden ser útiles en ensayos de cribado de compuestos que inhiben la amiloidosis *in vivo*, por ejemplo, en modelos animales, ensayos en células y ensayos *in vitro* de amiloidosis. Dichos compuestos pueden usarse, por ejemplo, para proporcionar ensayos más rápidos o más sensibles para los compuestos. La modulación de la agregación de amiloide se determina relativa a un sujeto sin tratar o relativa al sujeto tratado antes del tratamiento.

El término “formulación terapéutica” incluye formulaciones que realizan la función terapéutica que se pretende para ellas, por ejemplo, previenen, tratan o inhiben la amiloidosis, y se usan para reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal (es decir, náuseas y vómitos). La reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal puede depender, por ejemplo, de la interacción física directa en el estómago o de la acción central indirecta sobre el sistema nervioso central.

En ciertas realizaciones, el compuesto se reformula de tal forma que el compuesto tenga una función terapéutica deseable y una capacidad de reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal.

La reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal no depende solamente del compuesto terapéutico que se administre al sujeto. La reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal no depende del compuesto que tiene la fórmula 3-amino-1-propanosulfonato/X, donde X es un contracción, por ejemplo, ácido 3-amino-1-propanosulfónico, o su sal sódica. La reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal depende de un recubrimiento entérico o de un agente para la liberación modificada.

En una realización, se incluye al menos un agente adicional en la formulación terapéutica, donde el agente adicional difiere del compuesto terapéutico. En una realización específica, el agente adicional confiere al menos una propiedad deseable a la formulación terapéutica. En una realización particular, la propiedad deseable, al menos en parte, reduce o previene la intolerancia gastrointestinal. Por consiguiente, en una realización adicional, puede usarse un agente adicional en la formulación terapéutica para reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal de forma independiente o junto con otros procedimientos de reducir o prevenir la intolerancia. Para proteger contra cualquier posible intolerancia gastrointestinal que podría producirse debido a la formulación terapéutica, los comprimidos llevan un recubrimiento entérico o se les añade un agente que modifica la liberación para controlar la liberación rápida del compuesto terapéutico en el estómago o intestino.

En una realización de la invención, la reducción o prevención de la intolerancia gastrointestinal se logra reduciendo o previniendo la irritación local como resultado del pH elevado que se genera durante la disolución del compuesto terapéutico en el estómago posterior a la administración del compuesto terapéutico. Como ventaja adicional de las formulaciones terapéuticas de la presente invención, la reducción de la intolerancia gastrointestinal también consigue un mayor cumplimiento por parte de los sujetos de la administración, por ejemplo, los pacientes.

El compuesto terapéutico de la invención es ácido 3-amino-1-propanosulfónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. También debería observarse que el término “ácido alquilsulfónico” tal como se usa en la presente memoria debe interpretarse como que es sinónimo del término “ácido alcanosulfónico”.

Se ha demostrado que las composiciones de ácido 3-amino-1-propanosulfónico y ciertas sales del mismo son útiles en el tratamiento de enfermedades relacionadas con amiloide β , que incluyen la enfermedad de Alzheimer y angiopatía amiloide cerebral. Véase los documentos WO 01/85093 y la patente de Estados Unidos n.º 5.840.294.

Algunos ácidos alquilsulfónicos ejemplares incluyen los siguientes:



El ácido alquilsulfónico es una “molécula pequeña”, es decir, un compuesto que no es en sí producto de la transcripción o traducción génica (por ejemplo, proteína, ARN o ADN) y tiene un peso molecular bajo, por ejemplo, menos de aproximadamente 2500.

Los ácidos alquilsulfónicos pueden prepararse por los procedimientos que se ilustran en los esquemas de reacción generales como se describe, por ejemplo, en los documentos US 5.643.562; 5.972.328; 5.728.375; 5.840.294; 4.657.704; y la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/482.058, presentada el 23 de junio de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156-1, la solicitud de patente provisional de Estados Unidos n.º 60/512.135, presentada el 17 de octubre de 2003, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156-2, ambas tituladas *Synthetic Process for Preparing Compounds for Treating Amuloidosis*, y la solicitud de patente de Estados Unidos 10/_____, presentada el 18 de junio de 2004, identificada mediante el n.º de expediente de agente NBI-156, titulada *Improved Pharmaceutical Crug Candidates and Method for Preparation Thereof*, o mediante modificaciones de los mismos, usando materiales iniciales y reactivos fácilmente disponibles y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible usar variantes que son conocidas en sí mismas, pero que no se mencionan.

En general, los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante los procedimientos que se ilustran en los esquemas de reacción generales como se describe, por ejemplo, más adelante o mediante modificaciones de los mismos, usando materiales iniciales y reactivos fácilmente disponibles y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible usar variantes que son conocidas en sí mismas, pero que no se mencionan en la presente memoria. Los agentes de la presente invención pueden prepararse fácilmente de acuerdo con los esquemas de síntesis y protocolos que se describen en la presente memoria, tal como se ilustra en los procedimientos específicos. Sin embargo, los expertos en la técnica reconocerán que pueden usarse otras rutas de síntesis para formar los agentes de la presente invención, y que la siguiente se proporciona únicamente a modo de ejemplo. Véase, por ejemplo, “Comprehensive Organic Transformations” de R. Larock, VCH Publishers (1989). Se reconocerá además que se emplearán diversas estrategias de protección y desprotección que son estándar en la técnica (Véase, por ejemplo, “Protective Groups in Organic Synthesis” de Green y Wuts). Los expertos en las técnicas relevantes reconocerán que la selección de cualquier grupo protector particular (por ejemplo, grupos protectores de amina y carboxilo) dependerá de la estabilidad del resto protegido con respecto a las posteriores condiciones de reacción y entenderán las selecciones apropiadas. Las siguientes muestras de la bibliografía química ilustran adicionalmente el conocimiento de los expertos en la técnica: “Chemistry of the Aminio Acids” de J-P. Greenstein y M. Winitz, John Wiley & Sons, Inc., Nueva Cork (1961); “Comprehensive Organic Transformations” de R. Larock, VCH Publishers (1989); T.D. Ocain, y cols., J. Med. Chem. 31, 2193-99 (19988); E.M. Gordon, y cols., J. Med. Chem. 31, 2199-10 (1988); “Practice of Peptide Synthesis” de M. Bodansky y A. Bodanszky, Springer-Verlag, Nueva Cork (1984); “Protective Groups in Organic Synthesis” de T. Green y P. Wuts (1991); “Asymmetric Synthesis: Construction of Chiral Molecules Using Amino Acids” de G. M. Coppola y H.F. Schuster, John Wiley & Sons, Nueva york (1987); “The Chemical Synthesis of Peptides” de J. Jones, Oxford University Press, New York (1991); e “Introduction of Peptide Chemistry” de P.D. Bailey, John Wiley & Sons, Nueva york (1992).

Las estructuras químicas de la presente memoria están representadas de acuerdo con los patrones convencionales conocidos en la técnica. Así, cuando un átomo, como por ejemplo un átomo de carbono, tal y como se representa parece tener una valencia libre, entonces se asume que esa valencia está completada con un átomo de hidrógeno, aunque ese átomo de hidrógeno no esté representado necesariamente de forma explícita. A no ser que se estipule lo contrario, cualquier centro de carbono quiral puede tener estereoquímica (R)- o (S)-. Dichos isómeros pueden obtenerse en forma sustancialmente pura mediante técnicas de separación clásicas y mediante síntesis controlada estereoquímicamente. Además, los alquenos pueden incluir la geometría *E*- o *Z*-, cuando sea apropiado. Además, los compuestos de la presente invención pueden existir en forma no solvatada así como en formas solvatadas con disolventes aceptables como por ejemplo agua, THF, etanol y similares, así como formas polimorfas, por ejemplo, que incluyen formas pseudopolimórficas. El término “solvato” representa un agregado que comprende una o más moléculas de un compuesto, con una o más moléculas de un disolvente farmacéutico, como por ejemplo agua, etanol y similares.

Asimismo, los ejemplos de cationes que forman sales incluyen sales farmacéuticamente aceptables que se describen en la presente memoria, además de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, bario, cinc, hierro y amonio. En una realización adicional, el catión que forma sales es una sal de sodio.

5 En ciertas realizaciones de la invención, las formulaciones terapéuticas de la invención pueden contener ingredientes inactivos farmacéuticamente aceptables y un compuesto terapéutico que tiene la fórmula 3-amino-1-propanosulfonato/X, en la que el contracción incluye átomos y restos con carga positiva, respectivamente, que no afectan significativamente a la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal. En una realización preferida, el grupo catiónico es hidrógeno (H^+) y el compuesto es ácido 3-amino-1-propanosulfónico.

10 En otras realizaciones, el hidrógeno es sustituido por un catión farmacéuticamente aceptable y el compuesto es una sal del ácido. Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto terapéutico que no afectan significativamente a la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o evitar la intolerancia gastrointestinal están dentro del alcance de la invención. Por ejemplo, el catión puede ser un metal alcalino, alcalinotérreo, catión de valencia superior (por ejemplo, sal de aluminio), contraión poliatómico o amonio farmacéuticamente aceptables.

15 En una realización particular, la sal farmacéuticamente aceptable es una sal sódica, sin embargo, también se contemplan otras sales dentro de su intervalo farmacéuticamente aceptable.

20 Un “grupo sulfonato” tal como se usa en la presente memoria es un grupo $-SO_3H$ o $-SO_3X$ unido a un átomo de carbono, donde X es un grupo catiónico o un grupo éster. De forma similar, un compuesto de “ácido sulfónico” tiene un grupo $-SO_3H$ unido a un átomo de carbono.

De acuerdo con la invención, un grupo catiónico adecuado puede ser un átomo de hidrogeno. En ciertos casos, el grupo catiónico puede realmente ser otro grupo del compuesto terapéutico que tiene carga positiva a pH fisiológico, por ejemplo un grupo amino. Dichos compuestos que contienen un grupo catiónico de este tipo unido covalentemente al compuesto terapéutico en sí puede denominarse “sal interna” o “zwitterion”. El compuesto ácido 3-amino-1-propanosulfónico puede formar una sal interna o zwitterion en condiciones apropiadas.

30 El compuesto terapéutico de la invención es una molécula pequeña.

III. Formulaciones terapéuticas de la invención

35 La invención se refiere a una composición farmacéutica para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto tal como se especifica en las reivindicaciones anexas que comprende una formulación terapéutica tal como se define en la presente memoria, en una cantidad suficiente para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 En otra realización, la invención es una composición farmacéutica para tratar amiloidosis en un sujeto tal como se especifica en las reivindicaciones anexas que comprende una formulación terapéutica tal como se define en la presente memoria, en una cantidad suficiente para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

45 En otra realización, la invención es una composición farmacéutica para tratar o prevenir una enfermedad relacionada con amiloide o una enfermedad relacionada con $A\beta$, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, angiopatía amiloide cerebral, miositis con cuerpos de inclusión, degeneración macular, síndrome de Down, deficiencia cognitiva leve, declive cognitivo y hemorragia cerebral hereditaria tal como se especifica en las reivindicaciones anexas que comprende una formulación terapéutica tal como se define en la presente memoria, en una cantidad suficiente para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

50 En ciertas realizaciones, el compuesto terapéutico de las formulaciones terapéuticas de la invención interactúa con un sitio de unión de una glucoproteína o proteoglicano en una proteína amiloidogénica y así inhibe la unión de la proteína amiloidogénica al constituyente de la membrana basal. Las glucoproteínas y proteoglicanos de la membrana basal incluyen laminina, colágeno de tipo IV, fibronectina, agrina, perlecán y proteoglicano heparan sulfato (HSPG).

55 En una realización particular, el compuesto terapéutico inhibe una interacción entre una proteína amiloidogénica y agreina, perlecán o HSPG. Además, se han descrito los motivos de sitios de unión de consenso para HSPG en las proteínas amiloidogénicas (véase, por ejemplo, Cardin y Weintraub (1989) Arteriosclerosis 9: 21-32).

60 Por consiguiente, la invención incluye una composición farmacéutica tal como se especifica en las reivindicaciones anexas que puede estar envasada en un contenedor; e instrucciones para usar el compuesto para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto. En ciertas realizaciones, la enfermedad relacionada con dicha precipitación de amiloide se selecciona a partir del grupo constituido por enfermedad de Alzheimer, angiopatía amiloide cerebral, miositis con cuerpos de inclusión, degeneración macular, síndrome de Down, deficiencia cognitiva leve, declive cognitivo y hemorragia cerebral hereditaria.

65 El término “contenedor” incluye cualquier receptáculo para mantener la formulación terapéutica. Por ejemplo, en una realización, el contenedor es el envase que contiene la formulación. En otras realizaciones, el contenedor no es el envase que contiene la formulación, es decir, el contenedor es un receptáculo, como por ejemplo una caja o

vial que contiene la formulación envasada o la formulación no envasada y las instrucciones para usar la formulación. Además, las técnicas de envasado son notorias en la técnica. Se debería entender que las instrucciones para usar la formulación terapéutica pueden estar contenidas en el envase que contiene la formulación terapéutica, y como tal, las instrucciones forman una relación funcional aumentada con el producto envasado. Sin embargo, debería entenderse que las instrucciones pueden contener información sobre la capacidad del compuesto de realizar la función que se pretende, por ejemplo, reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal.

Las formulaciones terapéuticas de la invención también pueden incluir combinaciones de dos o más compuestos terapéuticos. Por consiguiente, la invención se refiere a una formulación terapéutica para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer que comprende ácido 3-amino-1-propanosulfónico y un segundo fármaco dirigido contra síntomas adicionales, por ejemplo, síntomas secundarios de la enfermedad de Alzheimer. En ciertas realizaciones, el “segundo fármaco” puede ser un inhibidor de colinesterasas, como por ejemplo un inhibidor de acetil colinesterasa o de butiril colinesterasa, por ejemplo, tacrina, donepezilo, rivastigmina o galantamina. En otra realización, el segundo fármaco puede ser un antagonista de los receptores de NMDA, como por ejemplo memantina. Todavía en otra realización, el segundo fármaco puede ser un antioxidante, vitamina E, estrógeno, un agente antiinflamatorio no esteroideo (por ejemplo, aspirina o naproxeno), un agente que modifica el colesterol como por ejemplo estatina o ginkgo biloba.

La formulación terapéutica de la invención puede incluir también un vehículo farmacéuticamente aceptable. Tal como se usa en la presente memoria, “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye cualquiera y todos los recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos y agentes que retrasan la absorción, y similares que son compatibles con la actividad del compuesto, son fisiológicamente aceptables para el sujeto y que no afectan de forma significativa la capacidad de la formulación terapéutica de realizar la función que se pretende o que no afectan significativamente la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios a las composiciones, siempre que no afecten significativamente a la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o prevenir las náuseas.

Los compuestos activos se administran en forma de una dosis terapéuticamente eficaz suficiente para inhibir la precipitación de amiloide en un sujeto. Una “dosis terapéuticamente eficaz” preferiblemente inhibe la precipitación de amiloide al menos en aproximadamente 20%, más preferiblemente en al menos aproximadamente 40%, incluso más preferiblemente en al menos aproximadamente 60% y todavía más preferiblemente en al menos aproximadamente 80% con respecto a los sujetos no tratados. La capacidad del compuesto de inhibir la precipitación de amiloide puede evaluarse en un sistema de modelo en animales que puede predecir la eficacia para inhibir la precipitación de amiloide en enfermedades en seres humanos. De forma alternativa, la capacidad de un compuesto de inhibir la precipitación de amiloide puede evaluarse examinando la capacidad del compuesto de inhibir una interacción entre una proteína amiloidogénica y un constituyente de la membrana basal, por ejemplo, tal como se describe en la patente de Estados Unidos n.º 5.164.295, o por el ensayo de espectroscopia de masas que se describe en el Ejemplo 5.

El término “sujeto” incluye organismos vivos en los que puede producirse la amiloidosis, o que son susceptibles a enfermedades por amiloide, por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, deterioro cognitivo leve, CAA, amiloidosis hereditaria, etc. Los ejemplos de sujetos incluyen seres humanos, monos, vacas, ovejas, cabras, perros y gatos. El término “sujeto” incluye animales (por ejemplo, mamíferos, por ejemplo, gatos, perros, caballos, cerdos, vacas, cabras, ovejas, roedores, por ejemplo, ratones o ratas, conejos, ardillas; osos, primates (por e, chimpancés, monos, gorilas y seres humanos)), así como gallinas, patos, patos chinos, ganso y especies transgénicas de los mismos.

En ciertas realizaciones de la invención, el sujeto necesita tratamiento con las formulaciones de la invención, y se selecciona para su tratamiento basándose en esto. Un sujeto que necesita tratamiento es reconocido en la técnica e incluye sujetos que han sido identificados como que tienen una enfermedad o trastorno que se refiere a la precipitación de amiloide o amiloidosis, que tienen un síntoma de dicha enfermedad o trastorno, o que presente riesgo de tener dicha enfermedad o trastorno, y sería de esperar, basándose en el diagnóstico, por ejemplo, diagnóstico médico, que se beneficiara del tratamiento (por ejemplo, curando, sanando, previniendo, aliviando, mitigando, alterando, remediando, mejorando, restableciendo o afectando a la enfermedad o trastorno, al síntoma de la enfermedad o trastorno, o al riesgo de la enfermedad o trastorno).

La administración de las composiciones de la presente invención a un sujeto a tratar puede realizarse usando procedimientos conocidos, a dosis y durante periodos de tiempo eficaces para inhibir la precipitación de amiloide en el sujeto. Una cantidad eficaz del compuesto terapéutico necesaria para lograr un efecto terapéutico puede variar de acuerdo con factores como por ejemplo la cantidad de amiloide ya depositado en la zona clínica en el sujeto, la edad, sexo y peso del sujeto, y la capacidad del compuesto terapéutico de inhibir la precipitación de amiloide en el sujeto. Las posologías pueden ajustarse de forma que proporcionen la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, pueden administrarse varias dosis fraccionadas a diario o la dosis puede reducirse proporcionalmente tal como indican las exigencias de la situación terapéutica. Un ejemplo no limitante de un intervalo de dosis eficaz para el compuesto terapéutico contenido en la formulación de la invención (ácido 3-amino-1-propanosulfónico y sus sales farmacéuticamente aceptables) es entre 1 y 500 mg/kg de peso corporal al día. Una persona de experiencia ordinaria en la técnica sería capaz de estudiar los factores relevantes y realizar la determinación sobre la cantidad eficaz del compuesto terapéutico sin experimentación indebida.

Los niveles de dosis reales de los principios activos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden variarse de forma que se obtenga una cantidad del principio activo que sea eficaz para lograr la respuesta terapéutica deseada para un paciente, composición y modo de administración particulares, sin ser tóxicos para el paciente.

En particular, el nivel de dosis dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto particular de la presente invención que se emplee, del tiempo de administración, la tasa de excreción del compuesto particular que se emplee, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos o materiales que se usen combinados con el compuesto particular que se emplee, la edad, sexo, peso, condición, salud general, e historia médica anterior del paciente que se esté tratando y factores similares notorios en las técnicas médicas.

Un doctor en ciencias de la salud, por ejemplo, un médico o veterinario, que tenga experiencia ordinaria en la técnica puede determinar fácilmente y prescribir la cantidad eficaz de la composición farmacéutica necesaria. Por ejemplo, el médico o veterinario podría iniciar dosis de los compuestos contenidos en la formulación de la invención que se emplean en la composición farmacéutica a niveles inferiores a los necesarios para lograr el efecto terapéutico deseado y gradualmente aumentar la dosis hasta que se logre el efecto deseado.

La pauta de administración puede afectar lo que constituye una cantidad eficaz. Las formulaciones terapéuticas pueden administrarse al sujeto o bien antes o después del inicio de la amiloidosis. Además, pueden administrarse varias dosis fraccionadas, así como dosis escalonadas, a diario o de forma secuencial, o la dosis puede administrarse en infusión continua, o puede ser una inyección embolada. Además, las dosis de las formulaciones terapéuticas pueden aumentarse o disminuirse proporcionalmente tal como indican las exigencias de la situación terapéutica o profiláctica.

En realizaciones particulares, es especialmente ventajoso formular las composiciones en forma monodosis para mayor facilidad de administración y uniformidad de la dosis. La forma monodosis, tal como se usa en la presente memoria se refiere a unidades físicamente separadas, preparadas como monodosis para los sujetos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto terapéutico que se calcula produce el efecto terapéutico deseado asociado con el vehículo farmacéutico necesario. La especificación de las formas monodosis de la invención viene dictada y dependen directamente de (a) las características únicas del compuesto terapéutico y el efecto terapéutico a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de la formación de compuestos/formulación de dicho compuesto terapéutico para el tratamiento de la precipitación de amiloide en sujetos.

La invención incluye composiciones farmacéuticas para tratar amiloidosis; inhibir la precipitación de amiloide; o prevenir o tratar una enfermedad relacionada con amiloide, por ejemplo, una enfermedad relacionada con A β , por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, angiopatía amiloide cerebral, miositis con cuerpos de inclusión, degeneración macular, síndrome de Down, deficiencia cognitiva leve, declive cognitivo y hemorragia cerebral hereditaria, tal como se especifica en las reivindicaciones anexas. Las formulaciones terapéuticas que se describen anteriormente en la presente memoria pueden incorporarse a una composición farmacéutica que contenga un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad de un compuesto terapéutico que se formula para reducir de forma significativa o para prevenir la intolerancia gastrointestinal, en una cantidad suficiente para tratar o inhibir la amiloidosis; inhibir la precipitación de amiloide; o prevenir o tratar una enfermedad relacionada con amiloide. Las composiciones farmacéuticas de la invención incluyen un compuesto terapéutico que tiene fórmula 3-amino-1-propanosulfonato/X, donde X es un contracción, en el que el contracción incluye átomos y restos con carga positiva, respectivamente, que no afectan la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal. En una realización preferida, el grupo catiónico es hidrógeno, H⁺ y el compuesto es ácido 3-amino-1-propanosulfónico.

IV. Administración

Las formulaciones de la presente invención son para administración oral. Las formulaciones pueden presentarse de forma conveniente en forma monodosis y pueden prepararse por cualquier procedimiento notorio en la técnica farmacéutica. La cantidad de principio activo que puede combinarse con un material transportador para producir una única monodosis será generalmente aquella cantidad de compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, de un porcentaje de cien, esta cantidad variará desde aproximadamente 1 por ciento a aproximadamente 99 por ciento, preferiblemente de aproximadamente 5 por ciento a aproximadamente 70 por ciento, lo más preferiblemente de aproximadamente 10 por ciento a aproximadamente 30 por ciento.

Los procedimientos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de asociar un compuesto de la presente invención con el vehículo y, opcionalmente, uno o más ingredientes accesorios. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme e íntima un compuesto de la presente invención con vehículos líquidos, o vehículos sólidos finamente fraccionados, o ambos, y después, si fuera necesario, dando forma al producto.

Las formulaciones de la invención para la administración oral pueden tener forma de cápsulas, sello, píldoras, comprimidos, pastillas (usando una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábiga o tragacanto), polvos, gránulos o en forma de solución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o en forma de emulsión de aceite en agua o de agua en aceite, o en forma de elixir o jarabe, o en forma de pastillas (usando una base inerte, como por ejemplo gelatina y glicerina o sacarosa o goma arábiga) o en forma de colutorios bucales y similares, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un compuesto como principio activo. Una formulación de la presente invención puede administrarse también en forma embolada, electuario o pasta.

En las formas farmacéuticas sólidas de la invención por la administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el principio activo se mezcla con uno o más vehículo farmacéuticamente aceptable, como por ejemplo citrato sódico o fosfato dicálcico, o cualquiera de los siguientes: cargas o expansores, como por ejemplo almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol o ácido silícico; Aglutinantes, como por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa o goma arábiga; humectantes, como por ejemplo glicerol; agentes disgregantes, como por ejemplo agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos, y carbonato sódico; agentes que retardan la disolución, como por ejemplo parafina; aceleradores de la absorción, como por ejemplo compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, como por ejemplo alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; absorbentes, como por ejemplo arcillas caolina y bentonita; lubricantes, como por ejemplo talco, estearato cálcico, estearato de magnesio, poletilenglicoles sólidos, laurilsulfato sódico y sus mezclas; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponadores. También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras con relleno, usando excipientes como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de elevado peso molecular y similares.

Las formulaciones de la invención son eficaces cuando se administran por vía oral. Por consiguiente, la vía de administración es la administración oral. El compuesto terapéuticamente activo puede estar recubierto de un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar el compuesto. Los compuestos de la invención pueden formularse para asegurar una distribución apropiada *in vivo*. Por ejemplo, la barrera hematoencefálica (BBB) excluye muchos compuestos muy hidrófilos; y para asegurar que los compuestos terapéuticos de la invención atraviesan la BBB, pueden formularse, por ejemplo, en liposomas. Para los procedimientos de fabricar liposomas, véase, por ejemplo, los documentos U.S. 4.522.811; 5.374.548 Y 5.399.331. Los liposomas pueden comprender uno o más restos que se transportan selectivamente a células u órganos específicos ("restos dirigidos"), proporcionando así una administración dirigida de los fármacos (véase, por ejemplo, V. V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29: 685). Los restos dirigidos ejemplares incluyen folato y biotina (véase, por ejemplo, el documento U.S. 5.416.016 de Low y cols.); manósidas (Umezawa y cols. (1988) Biochem. Biophys Res. Commun. 153: 1038); anticuerpos (P. G. Bloeman y cols. (1995) FEBS Lett. 357: 140; M. Owais y cols. (1995) Antimicrob. Agents Chemoter. 39: 180); receptor de la proteína A tensioactiva (Briscoe y cols. (1995) Am. J. Physiol. 1233: 134); gp120 (Schreier y cols. (1994) J. Biol. Chem. 269: 9090); véase también K. Keinanen; M. L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346: 123; J. J. Killion; L. KJ. Fidler (1994) Immunomethods 4: 273.

Para administrar el compuesto terapéutico puede ser necesario recubrir el compuesto, o coadministrar el compuesto con un material para evitar su inactivación. Por ejemplo, el compuesto terapéutico puede administrarse a un sujeto en un vehículo apropiado, por ejemplo, liposomas, o un diluyente. Los liposomas incluyen emulsiones de agua en aceite en agua CGF, así como liposomas convencionales (Strejan, y cols., J Neuroimmunol. 7, 27 (1984)).

El compuesto terapéutico puede administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. El compuesto terapéutico y otros ingredientes pueden estar también incluidos en una cápsula de gelatina de valvas duras o blandas, comprimirse en forma de comprimidos o incorporarse directamente a la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, al compuesto terapéutico pueden incorporarse excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. El porcentaje del compuesto terapéutico en la composición y en las preparaciones por supuesto puede variar. La cantidad del compuesto terapéutico en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtenga una dosis adecuada.

El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye un material, composición o vehículo farmacéuticamente aceptable, como por ejemplo una carga, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulado líquido o sólido, cuyo cometido es portar o transportar un compuesto(s) de la presente invención dentro o al sujeto de tal forma que pueda realizar la función para la que se pretende. Habitualmente, dichos compuestos se portan o transportan de un órgano, o porción del organismo, a otro órgano o porción del organismo. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación, no ser lesivos para el paciente, y en el sentido de que no afecte a la capacidad de la formulación terapéutica de reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluye: azúcares, como por ejemplo lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, como por ejemplo almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, y sus derivados, como por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, como por ejemplo manteca de cacao y ceras de supositorios; aceites, como por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cárcamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, como por ejemplo propilenglicol; polioles, como por ejemplo glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, como por ejemplo oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponadores, como por ejemplo hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones de tampón fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas que se emplean en las formulaciones farmacéuticas conocidas en la técnica.

También puede haber agentes humectantes, emulsionantes y lubricantes, como por ejemplo laurilsulfato sódico y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes liberadores, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes.

Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, como por ejemplo ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico, sulfito sódico y similares; antioxidantes, como por ejemplo palmitato de ascorbilo, hidroxianisol titulado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, propilgalato, alfa-tocoferol, y similares; y agentes quelantes metálicos, como por ejemplo ácido cítrico, ácido etilendiamina tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico, ácido fosfórico, y similares.

Un comprimido puede prepararse mediante compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos por compresión pueden prepararse usando un aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa, lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato sódico o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos, y otras formas farmacéuticas sólidas de las composiciones farmacéuticas de la presente invención, como por ejemplo grageas, cápsulas, píldoras y gránulos o bien son ranuradas o se preparan con recubrimientos gastroresistentes o se formulan de tal forma que proporcionen una liberación lenta o controlada del principio activo usando en el, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables proporcionando el perfil de liberación deseado, otras matrices poliméricas, liposomas o microesferas. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro que retenga las bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes del uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes, y/o pueden contener agentes que liberen el principio(s) activo(s) sólo, o preferentemente, en una cierta porción del tubo gastrointestinal, opcionalmente de forma retardada. Los ejemplos de composiciones de embebimiento que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si fuera apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Los polvos pueden contener, además de un compuesto de la presente invención, excipientes como por ejemplo lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias.

Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral de los compuestos de la invención incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes que se usan habitualmente en la técnica, como por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, como por ejemplo alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato etílico, acetato etílico, alcohol bencílico, benzoato bencílico, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol de tetrahidrofurilo, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitana, y sus mezclas. Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes como por ejemplo agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes de isostearilo etoxilados, polioxietilén sorbitol y ésteres de sorbitana, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y sus mezclas.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes como por ejemplo conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse por la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabén, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, como por ejemplo azúcares, cloruro sódico y similares en las composiciones.

En una realización, la formulación farmacéutica comprende más de aproximadamente 0,1%, por ejemplo, más de aproximadamente 1%, por ejemplo, más de aproximadamente 2%, por ejemplo, más de aproximadamente 3%, por ejemplo, más de aproximadamente 4%, por ejemplo, más de aproximadamente 5%, por ejemplo, más de aproximadamente 10%, por ejemplo, más de aproximadamente 20%, por ejemplo, más de aproximadamente 30%, por ejemplo, más de aproximadamente 40%, por ejemplo, más de aproximadamente 50%, por ejemplo, más de aproximadamente 60%, por ejemplo, más de aproximadamente 70%, por ejemplo, más de aproximadamente 80%, por ejemplo, más de aproximadamente 90%, por ejemplo, más de aproximadamente 95%, por ejemplo, más de aproximadamente 99% de un compuesto terapéutico, es decir, un compuesto ácido 3-amino-1-propanosulfónico, en peso de la formulación. En una realización específica, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente $12,6\% \pm 0,5\%$ del compuesto terapéutico en peso de la formulación. En otra realización específica, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente $95,2\% \pm 0,5\%$ del compuesto terapéutico en peso de la formulación. El resto de la formulación farmacéutica puede estar compuesto por más agentes tal como se describe en la presente memoria.

En otra realización, la formulación farmacéutica comprende más de aproximadamente 0,1%, por ejemplo, más de aproximadamente 1%, por ejemplo, más de aproximadamente 2%, por ejemplo, más de aproximadamente 3%, por ejemplo, más de aproximadamente 4%, por ejemplo, más de aproximadamente 5%, por ejemplo, más de aproximadamente 10%, por ejemplo, más de aproximadamente 20%, por ejemplo, más de aproximadamente 30%, por ejemplo,

más de aproximadamente 40%, por ejemplo, más de aproximadamente 50%, por ejemplo, más de aproximadamente 60%, por ejemplo, más de aproximadamente 70%, por ejemplo, más de aproximadamente 80%, por ejemplo, más de aproximadamente 90%, por ejemplo, más de aproximadamente 95%, por ejemplo, más de aproximadamente 99% de un agente adicional, un agente que modifica la liberación del compuesto terapéutico o un recubrimiento entérico, en peso de la formulación. Debería entenderse que estos porcentajes son intervalos que se aplican a uno o más agentes adicionales de la formulación, independientemente o combinados.

El agente adicional se usa en la formulación terapéutica para reducir o prevenir la intolerancia gastrointestinal de forma independiente o junto con otros procedimientos para reducir o prevenir la intolerancia. Los agentes adicionales ejemplares se describen en la presente memoria. Para proteger contra cualquier posible intolerancia gastrointestinal que podría producirse con la formulación terapéutica, los comprimidos incluyen un recubrimiento entérico o se añade un agente de liberación modificada para controlar la rápida liberación del compuesto terapéutico en el estómago o el intestino. En una realización específica, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente $9,3\% \pm 0,5\%$ del agente adicional en peso de la formulación. En otra realización específica, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente $8,8\% \pm 0,5\%$ del agente adicional en peso de la formulación. En otra realización específica, la formulación farmacéutica comprende aproximadamente $5,6\% \pm 0,5\%$ del agente adicional en peso de la formulación.

En realizaciones específicas de la invención, el compuesto terapéutico se administra con un agente que se selecciona a partir del grupo constituido por un agente que modifica la liberación del compuesto terapéutico, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), un deslizante/diluyente, por ejemplo celulosa microcristalina silicatada, una carga, por ejemplo fosfato cálcico dibásico, un aglutinante/disgregante, por ejemplo, Starch® 1500, un lubricante, por ejemplo ácido esteárico en polvo o estearato magnésico, un recubrimiento interno, por ejemplo Opadry® II White, un recubrimiento exterior, por ejemplo Opadry® II White, u Opadry® Clear, un recubrimiento entérico, por ejemplo Acryleze® y cualquier combinación de los mismos. Los siguientes materiales están disponibles en Colorcon (West Point, PÁ, EE. UU.): Starch(r) 1500, Opadry(r) II White, Opadry(r) Clear, Acryleze(R). A continuación en los Ejemplos se describen diversas realizaciones de la invención.

Equivalentes

Los expertos en la técnica reconocerán, o serán capaces de determinar usando nada más que experimentación rutinaria y el contenido de la presente memoria descriptiva, numerosos equivalentes para los procedimientos, realizaciones y ejemplos específicos que se describen en la presente memoria. Dichos equivalentes se considera que están dentro del alcance de la presente invención tal como se especifica en las reivindicaciones anexas a este documento.

Debe entenderse que cuando en la presente memoria se proporciona valores e intervalos, por ejemplo, en la edad de las poblaciones sujeto, dosis y niveles en sangre, todos los valores e intervalos comprendidos en estos valores e intervalos, se pretende que estén comprendidos en el alcance de la presente invención. Además, todos los valores que entran dentro de estos intervalos, así como los límites superiores e inferiores de un intervalo de valores están contemplados por la presente solicitud de patente.

Ejemplos

La invención se ilustra además mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1

Cápsulas de gelatina para la administración oral (Comparativo)

La fórmula unitaria de cápsulas de gelatina blanca de 100 y 400 mg se presenta en la Tabla 2.

TABLA 2

Fórmula unitaria para las cápsulas de gelatina de 100 y 400 mg

Ingrediente	Calidad	Función	Cápsulas (mg/cápsula)	
			100 mg	400 mg
ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica	MS*	Principio activo	100 mg	400 mg
Carbonato cálcico	NF	Carga	4,45	17,8
Estearato magnésico	NF	Lubricante	0,55	2,2

*MS: estándar del fabricante, NF: Formulario nacional, USP: Farmacopea de los Estados Unidos

ES 2 328 818 T3

Los resultados de ciertos estudios han demostrado que la administración de ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica en forma farmacéutica sólida (cápsulas) estaba asociada a síntomas gastrointestinales (es decir, náuseas y vómitos). Investigaciones posteriores revelaron que los síntomas gastrointestinales eran provocados, al menos en parte, por la irritación local debida al elevado pH generado durante la disolución de la sal sódica del ácido amino-1-propanosulfónico en el estómago. Los experimentos adicionales en perros (con formas farmacéuticas sólidas) han demostrado que el ácido libre se toleraba mejor que la sal sódica. Además, la naturaleza no higroscópica de la forma ácida hace que sea deseable como principio farmacéutico activo. Para proteger adicionalmente contra cualquier posible intolerancia gastrointestinal que podría producir la forma ácida, los comprimidos se recubrieron con un recubrimiento entérico y se añadió un agente de liberación modificada para controlar la rápida liberación del fármaco en el estómago y el intestino, respectivamente.

Ejemplo 2

Comprimidos con recubrimiento entérico

Los comprimidos con recubrimiento entérico de 100 y 400 mg se prepararon de acuerdo con una formulación en la que la sustancia medicamentosa producida mediante un proceso que utiliza intercambio iónico para eliminar el sodio se hacía más densa granulando con agua debido a su baja densidad y esponjosidad. La fórmula unitaria de los comprimidos de 100 y 400 mg con recubrimiento entérico se presenta en la Tabla 3.

TABLA 3

Fórmula unitaria para comprimidos de 100 y 400 mg con recubrimiento entérico

Ingrediente	Calidad	Función	Comprimido con recubrimiento entérico (mg/cápsula)	
			100 mg	400 mg
Núcleo:				
Ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica	MS*	Principio activo	100 mg	400 mg
Celulosa microcristalina silicatada	NF	Deslizante/diluyente	350,00	70,00
Fosfato cálcico dibásico	USP	Carga	158,40	112,00
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	USP	Modificador de la liberación del fármaco	70,00	70,00
Starch® 1500	NF	Aglutinante/disgregante	11,10	37,50
Ácido esteárico en polvo	NF	Lubricante	7,00	7,00
Estearato de magnesio	NF	Lubricante	1,80	0,018
Recubrimiento:				
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento interno	14,00	14,00
Acryleze®	MS*	Recubrimiento entérico	42,00	42,00
Peso total:			756,00	756,00

*MS: estándar del fabricante, NF: Formulario nacional, USP:

Farmacopea de los Estados Unidos

ES 2 328 818 T3

Los datos *in vitro* (velocidad de disolución) y de PK de los comprimidos con recubrimiento entérico de 100 mg que se usan en los estudios de Fase I iniciales indicaron que estos comprimidos producirían una PK aceptable y una buena tolerabilidad.

Ejemplo 3

Comprimidos recubiertos de liberación modificada

Los estudios clínicos indicaron que el papel del recubrimiento entérico y el modificador de la liberación del fármaco sería significativo sobre el perfil farmacocinético (PK) del producto medicamentoso así como sobre su tolerabilidad. Por consiguiente, para proporcionar un resultado farmacéutico particular en términos de PK, tolerabilidad y estabilidad del producto, se formuló un modificador de la liberación del fármaco en el comprimido. Para mejorar la estabilidad física del producto en términos de aceptabilidad del recubrimiento con película y capacidad de protección de la humedad, en condiciones aceleradas, el sistema de recubrimiento entérico se modificó aumentando la cantidad de recubrimiento entérico y añadiendo un recubrimiento externo.

Se preparó un comprimido recubierto de liberación modificada constituido por el principio activo (ácido 3-amino-1-propanosulfónico) y los ingredientes inactivos (celulosa microcristalina silicatada, fosfato cálcico dibásico, hidroxipropilmetilcelulosa, almidón, ácido esteárico, estearato de magnesio, así como Opadry® II White (recubrimiento interno y externo) y Acryleze®). La fórmula unitaria del comprimido recubierto de liberación modificada de 50 mg se proporciona en la Tabla 4.

TABLA 4

Fórmula unitaria para comprimidos recubiertos de liberación modificada de 50 mg

Ingrediente	Calidad	Función	Cantidad por comprimido (mg)	Cantidad por lote (kg)
Núcleo:				
Ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica	MS*	Principio activo	50,00	0,500
Celulosa microcristalina silicatada	NF	Deslizante/diluyente	174,73	1,746

ES 2 328 818 T3

Fosfato cálcico dibásico	USP	Carga	79,42	0,794
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	USP	Modificador de la liberación del fármaco	35,00	0,350
Starch® 1500	NF	Aglutinante/disgregante	5,55	0,056
Ácido esteárico en polvo	NF	Lubricante	3,50	0,036
Estearato de magnesio	NF	Lubricante	1,80	0,018
Peso:			350,00	3,500
Recubrimiento:				
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento interno	7,00	0,072
Acryleze®	MS*	Recubrimiento entérico	35,00	0,360
Opadry® Clear	MS*	Recubrimiento externo	3,50	0,036
Peso total:			395,50	3,974

*MS: estándar del fabricante, NF: Formulario nacional, USP:

Farmacopea de los Estados Unidos

Ejemplo 4

Comprimidos recubiertos de liberación modificada

Se realizó una ligera modificación del recubrimiento de la formulación del Ejemplo 3: el Opadry® Clear que se usó como recubrimiento externo en el Ejemplo 3 se sustituyó por Opadry® II White, que también se usa para el recubrimiento interno. Al igual que el Opadry® Clear, el Opadry® II White es una preparación con base de HPMC con capacidad sellante y que por lo tanto funciona igualmente para potenciar la capacidad de protección de la humedad del recubrimiento entérico (Acryleze®). El cambio en el sistema de recubrimiento del recubrimiento exterior fue un cambio en el proceso que puede ser conveniente a la hora de aumentar la escala del tamaño de la formulación del producto, es decir, para facilitar la transición de aplicar un recubrimiento al otro durante el proceso de recubrimiento al evitar que se atascaran las pistolas pulverizadoras durante la transición de la etapa de recubrimiento entérico a la etapa de aplicación del recubrimiento exterior durante el proceso de recubrimiento.

La fórmula unitaria de los comprimidos recubiertos de liberación modificada de 50 mg se proporciona en la Tabla 5.

ES 2 328 818 T3

TABLA 5

Fórmula unitaria para comprimidos recubiertos de liberación modificada de 50 mg

Ingrediente	Calidad	Función	Cantidad por comprimido (mg)	Cantidad por lote (kg)
Núcleo:				
Ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica	MS*	Principio activo	50,00	0,500
Celulosa microcristalina silicatada	NF	Deslizante/diluyente	174,73	1,746
Fosfato cálcico dibásico	USP	Carga	79,42	0,794
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	USP	Modificador de la liberación del fármaco	35,00	0,350
Starch® 1500	NF	Aglutinante/disgregante	5,55	0,056
Ácido esteárico en polvo	NF	Lubricante	3,50	0,036
Estearato de magnesio	NF	Lubricante	1,80	0,018
Peso:			350,00	3,500
Recubrimiento:				
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento interno	7,00	0,072
Acryleze®	MS*	Recubrimiento entérico	35,00	0,360
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento externo	3,50	0,036
Peso total:			395,50	3,974

*MS: estándar del fabricante, NF: Formulario nacional, USP:

Farmacopea de los Estados Unidos

El perfil de disolución, que se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento de la USP (USP 25, Procedimiento B, p. 2017), indica que la velocidad de disolución de los dos comprimidos recubiertos de liberación modificada de 50 mg (Ejemplos 3 y 4) es comparable.

ES 2 328 818 T3

Además, para mejorar la estabilidad del aspecto, es decir, la blancura, se preparó la siguiente formulación de comprimido recubierto de liberación modificada, es decir, con más Opadry® II White.

TABLA 6

Fórmula unitaria para comprimidos recubiertos de liberación modificada de 50 mg

Ingrediente	Calidad	Función	Cantidad por comprimido (mg)	Cantidad por lote (kg)
Núcleo:				
Ácido 3-amino-1-propanosulfónico, sal sódica	MS*	Principio activo	50,00	0,500
Celulosa microcristalina silicatada	NF	Deslizante/diluyente	174,73	1,746
Fosfato cálcico dibásico	USP	Carga	79,42	0,794
Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC)	USP	Modificador de la liberación del fármaco	35,00	0,350
Starch® 1500	NF	Aglutinante/disgregante	5,55	0,056
Ácido esteárico en polvo	NF	Lubricante	3,50	0,036
Estearato de magnesio	NF	Lubricante	1,80	0,018
Peso:			350,00	3,500
Recubrimiento:				
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento interno	7,00	0,072
Acryleze®	MS*	Recubrimiento entérico	35,00	0,360
Opadry® II White	MS*	Recubrimiento externo	7,00	0,072
Peso total:			399,00	4,004

*MS: estándar del fabricante, NF: Formulario nacional, USP: Farmacopea de los Estados Unidos

ES 2 328 818 T3

Ejemplo 5

Ensayo de espectroscopia de masas

5 La unión de un compuesto a las fibrillas amiloides puede medirse usando un ensayo de espectroscopia de masas (“EM”) tal como se describe a continuación.

10 Se preparan las muestras en forma de soluciones acuosas que contienen 20% de etanol, 200 μ M de un compuesto de prueba y 20 μ M de A β 40 solubilizado. El valor del pH de cada muestra se ajusta a 7,4 ($\pm$ 0,2) mediante la adición de hidróxido sódico acuoso al 0,1%. Las soluciones después se analizan mediante espectroscopia de masas con ionización por electrospray usando un espectrómetro de masas Waters ZQ 4000. Las muestras se introducen mediante infusión directa a un caudal de 25 μ l/min en las 2 horas posteriores a la preparación de la muestra. La temperatura de la fuente se mantiene a 70°C y el voltaje del cono es 20 V para todo el análisis. Los datos se procesan usando el programa Masslynx 3.5.

15 Los datos de los ensayos de EM resultantes proporcionan un mejor entendimiento de la capacidad de los compuestos de unirse a A β .

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Formulación que comprende una sustancia que se selecciona a partir de ácido 3-amino-1-propanosulfónico y sus sales farmacéuticamente aceptables, y un componente adicional que se selecciona a partir de un recubrimiento entérico y un agente que proporciona una liberación lenta o controlada de la sustancia,

para usar en el tratamiento o prevención orales de una enfermedad o afección relacionada con amiloide que se selecciona a partir del grupo constituido por enfermedad de Alzheimer, angiopatía amiloide cerebral, miositis con cuerpos de inclusión, degeneración macular, síndrome de Down, deficiencia cognitiva leve, declive cognitivo y hemorragia cerebral hereditaria,

a la vez que reduce o previene la intolerancia gastrointestinal.

2. La formulación de la reivindicación 1, en la que la enfermedad o afección relacionada con amiloide se trata de forma profiláctica o terapéutica.

3. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. La formulación de la reivindicación 3, que comprende un agente que modifica la liberación de la sustancia, un deslizante/diluyente, una carga, un aglutinante/disgregante, un lubricante, un recubrimiento interno, un recubrimiento externo, un recubrimiento entérico, y cualquier combinación de los mismos.

5. La formulación de la reivindicación 4, en la que el agente que modifica la liberación de la sustancia es hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC).

6. La formulación de la reivindicación 4, en la que el deslizante/diluyente es celulosa microcristalina silicatada.

7. La formulación de la reivindicación 4, en la que la carga es fosfato cálcico dibásico.

8. La formulación de la reivindicación 4, en la que aglutinante/disgregante es Starch® 1500.

9. La formulación de la reivindicación 4, en la que el lubricante es ácido esteárico en polvo.

10. La formulación de la reivindicación 4, en la que el lubricante es estearato de magnesio.

11. La formulación de la reivindicación 4, en la que el recubrimiento interno es Opadry® II White.

12. La formulación de la reivindicación 4, en la que el recubrimiento externo es Opadry® II White u Opadry® Clear.

13. La formulación de la reivindicación 4, en la que recubrimiento entérico es Acryleze®.

14. La formulación de la reivindicación 1, en la que la sustancia está presente en una cantidad suficiente para inhibir la neurodegeneración o la toxicidad celular inducida por amiloide, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

15. La formulación de la reivindicación 1, en la que la enfermedad relacionada con amiloide es angiopatía amiloide cerebral.

16. La formulación de la reivindicación 1, en la que la enfermedad relacionada con amiloide es enfermedad de Alzheimer.

17. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación comprende la sustancia y más de 1% en peso de un agente adicional.

18. La formulación de la reivindicación 17, en la que el agente adicional es un recubrimiento entérico.

19. La formulación de la reivindicación 17, en la que el agente adicional es un agente que modifica la liberación de la sustancia.

20. La formulación de la reivindicación 1, en la que la formulación es para inhibir la precipitación de amiloide.