



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 346 185**

51 Int. Cl.:
A61K 38/30 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **01968180 .8**
96 Fecha de presentación : **28.08.2001**
97 Número de publicación de la solicitud: **1313499**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.05.2003**

54 Título: **Método para tratar el sistema nervioso central mediante la administración de análogos estructurales de IGF.**

30 Prioridad: **29.08.2000 US 228633 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.10.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.10.2010

73 Titular/es: **Aurogen Incorporated**
P.O. Box B
Fort Collins, Colorado 80522, US

72 Inventor/es: **Ishii, Douglas, N.**

74 Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 346 185 T3

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

Método para tratar el sistema nervioso central mediante la administración de análogos estructurales de IGF.

5 **Sumario de la invención**

Esta invención está dirigida al uso en la fabricación de un medicamento para tratar el sistema nervioso central mediante la administración en columna no intracraneal y no intravertebral de uno o más análogos estructurales de IGF. Más particularmente, la invención está dirigida a tratar trastornos o enfermedades del cerebro o la médula espinal mediante la administración en columna no intracraneal o no intravertebral de uno o más análogos estructurales de IGF.

Loddick y col. en *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 95, febrero de 1998, pág. 1894-1898, dan a conocer el uso de análogos estructurales de IGF-I para el tratamiento de apoplejía y enfermedades neurodegenerativas después de administración intracerebroventricular. El documento WO91/12018 da a conocer el uso de análogos estructurales de IGF-I para el tratamiento de enfermedades intestinales después de inyección subcutánea. Lemmay y col. en *Bioscience information service*, 1991, dan a conocer el efecto anabólico de análogos estructurales de IGF-I aplicados mediante bombas osmóticas después de traumatismo quirúrgico por resección intestinal. El documento US-A-4876242 da a conocer la fabricación de análogos sintéticos de IGF-I y su estimulación de algunos procesos de crecimiento. El documento US-A-5420111 da a conocer el uso de análogos estructurales de IGF-I o IGF-II para el tratamiento del retardo del crecimiento fetal. El documento US-A-5473054 da a conocer el tratamiento de restenosis de arterias coronarias, neoplasia y metástasis cerebrales por análogos estructurales de IGF-I.

Descripción de los dibujos

Fig. 1. Detección dependiente de la concentración de (A) hIGF-I, (B) Des(1-3)hIGF-I, (C) [Leu²⁴]hIGF-I y (D) [Leu⁶⁰]hIGF-I por ELISA. Se ensayaron las muestras por triplicado a cada concentración. Se determinó el coeficiente de correlación, r, mediante regresión lineal usando un programa de software informático.

Fig. 2. Distribución dependiente de la dosis de hIGF-I inmunorreactivo en LCR y plasma después de inyecciones subcutáneas en ratas adultas. Se extrajeron plasma y LCR para ELISA 90 min después de una sola inyección subcutánea en bolo de la dosis indicada de hIGF-I, y se ensayó cada muestra por triplicado. Se muestran medias \pm DE del grupo (n = 3 ratas por dosis). Parte A, hIGF-I de LCR. Parte B, hIGF-I de plasma. Se representaron los datos usando regresión lineal, r = 0,97.

Fig. 3. Efecto de la administración simultánea de hIGF-II sobre la captación de hIGF-I en LCR. Se inyectaron por vía subcutánea a las ratas 150 μ g de hIGF-I solo (n = 8) o la combinación de 150 μ g de hIGF-I y 400 μ g de hIGF-II (n = 6). Se extrajeron plasma y LCR 90 min después para el ensayo. Los valores son medias \pm DE. Se compararon las medias de grupo usando una prueba de t. *P<0,02.

Fig. 4. Distribución comparativa en LCR y plasma después de la administración de Des(1-3)hIGF-I (n = 4), hIGF-I (n = 3) o vehículo (n = 2). Se inyectaron por vía subcutánea cantidades equivalentes (200 μ g por rata) de Des(1-3)hIGF-I o hIGF-I, y se extrajeron plasma y LCR para el ensayo 90 min después. Se compararon las medias de grupo usando la prueba *a posteriori* de Newman-Keuhl. *P<0,002 y 0,003 para Des y hIGF-I, respectivamente, frente al control en LCR. *P<0,002 para hIGF-I frente al control en plasma.

Fig. 5. Captación de [Leu²⁴]hIGF-I y [Leu⁶⁰]hIGF-I en LCR. Se inyectaron por vía subcutánea [Leu²⁴]hIGF-I (200 μ g por rata; n = 3 ratas), [Leu⁶⁰]hIGF-I (100 μ g por rata; n = 4) o hIGF-I (200 μ g por rata; n = 3) o vehículo (n = 9), y 90 min después se extrajeron plasma y LCR para el ensayo. Parte A, LCR; Parte B, plasma. Se detectaron las diferencias entre medias de grupo usando la prueba *a posteriori* de Newman-Keuhl. *P<0,002 para hIGF-I frente a [Leu²⁴]hIGF-I en LCR. *P<0,0004 para [Leu²⁴] y [Leu⁶⁰] frente al control y 0,0007 para hIGF-I frente al control en LCR. En plasma, *P<0,0002 y 0,0005 para [Leu²⁴] y [Leu⁶⁰], respectivamente, frente a hIGF-I. *P<0,0005 y 0,0002 para [Leu⁶⁰] y hIGF-I, respectivamente, frente al control.

Descripción detallada de la invención

Esta invención está dirigida al uso en la fabricación de un medicamento para tratar el sistema nervioso central mediante la administración en columna no intracraneal y no intravertebral de uno o más análogos estructurales de IGF. Más particularmente, la invención está dirigida a tratar trastornos o enfermedades del cerebro o de la médula espinal mediante la administración en columna no intracraneal o no intravertebral de uno o más análogos estructurales de IGF. Con los fines de esta invención, los “análogos estructurales de IGF” se definen como moléculas que tienen una homología de secuencia sustancial con factores de crecimiento de tipo insulina de origen natural (IGF), incluyendo IGF-I e IGF-II humanos y animales (incluyendo, pero sin limitación, de vaca, cerdo, perro, oveja, caballo, ciervo, cabra, rata, ratón y pollo). Más preferiblemente, los análogos estructurales de IGF tienen secuencias aminoácidas de moléculas de IGF que se han modificado mediante deleciones, sustituciones y/o adiciones de menos de 15 aminoácidos.

Según la invención, la vía de administración preferida del análogo estructural de IGF es en un sitio fuera de la barrera hematoencefálica (BBB), de la barrera hematonerviosa del sistema nervioso central (B-CNS-B) y de la barrera hematomedular (B-SC-B). Puede usarse cualquiera de las vías de administración comunes conocidas por

la ciencia farmacéutica que pueda suministrar análogos estructurales de IGF a la circulación incluyendo, pero sin limitación, percutánea, intradérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intraperitoneal, parenteral, bucal, sublingual, rectal, oral, nasal, por inhalación, por una bomba o matriz implantada subcutáneamente o por un constructo plasmídico que contiene un gen de análogo estructural de IGF que se administra a un sitio fuera de la BBB, B-CNS-B y B-SC-B. Por ejemplo, la cavidad nasal y el pulmón están muy vascularizados, y los análogos estructurales de IGF administrados a la cavidad nasal o mediante inhalación pueden captarse rápidamente por los microvasos locales, dando como resultado la captación de análogos de IGF por el líquido cefalorraquídeo (LCR) a través de la BBB o B-CNS-B. Esta invención no está limitada a una vía de administración particular más que la administración sea en un sitio fuera de la BBB, B-CNS-B y B-SC-B.

En una realización preferida, puede administrarse un análogo estructural de IGF solo o en combinación con otros análogos de IGF. El análogo de IGF puede combinarse también con uno o más excipientes, agentes colorantes, sales, disolventes, portadores, estabilizadores y otros ingredientes que pueden usarse en formulaciones y son conocidos en la ciencia farmacéutica. En una realización preferida adicional, se administra el análogo estructural de IGF en una cantidad de aproximadamente 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{día}$ a aproximadamente 4 $\text{mg}/\text{kg}/\text{día}$.

En una realización preferida, la invención está dirigida a tratar trastornos o enfermedades del cerebro o la médula ósea después del nacimiento, tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el SIDA, demencia senil, apoplejía, traumatismo, síndromes ganglionares corticobasales, demencia progresiva, demencia familiar con paraparesia espástica, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis múltiple, encefalopatía hepática, enfermedad de Pick, enfermedad de Huntington, esclerosis cerebral difusa de Schilder, encefalomielitis hemorrágica necrosante aguda, tumores cerebrales y similares. Esta invención no incluye esclerosis lateral amiotrófica.

Los análogos estructurales de IGF que pueden usarse en la presente invención incluyen, pero sin limitación, des(1-3)IGF-I, que es un análogo de IGF-I que carece del tripéptido *N*-terminal; [Arg³]IGF-I, que es un análogo de IGF-I en el que Arg está sustituida por Glu en posición 3; [Leu²⁴]IGF-I, que es un análogo de IGF-I en el que Leu está sustituida por Thr en posición 24; [Leu⁶⁰]IGF-I, que es un IGF-I mutante con Leu sustituida por Tyr en posición 60; R³IGF-I largo, que es un IGF-I mutante con Arg sustituida por Glu en posición 3, así como una extensión de 13 aminoácidos en el extremo *N*; des(1-6)IGF-II, que es un análogo de IGF-II que carece del hexapéptido *N*-terminal; [Gly¹]IGF-II, que es un IGF-II mutante con Gly sustituida por Ala en posición 1; [Arg⁶]IGF-II, que es un IGF-II mutante con Arg sustituida por Glu en posición 6 y [Leu²⁷]IGF-II, que es un IGF-II mutante con Leu sustituido por Tyr en posición 27. Estos análogos estructurales de IGF están comercialmente disponibles, por ejemplo, en GroPep, Pty. Ltd. (Australia). Se aprecia que es posible producir en la materia diversos análogos estructurales de IGF adicionales.

Los análogos estructurales de IGF usados en la presente invención tienen actividad biológica. Por ejemplo, es conocido que el des(1-3)IGF-I administrado al ojo puede potenciar el crecimiento de médula ósea, corteza cerebral y corteza parietal transplantados en el ojo. Puede aumentar la actividad de colina acetiltransferasa en médula espinal cultivada y potenciar el crecimiento de células de bulbo olfativo cultivadas. [Arg³]IGF-I, R³IGF-I largo, [Leu²⁴]IGF-I, [Leu⁶⁰]IGF-I, des(1-6)IGF-II, [Gly¹]IGF-II, [Arg⁶]IGF-II y [Leu²⁷]IGF-II pueden unirse a receptores de IGF de tipo I, receptores de IGF de tipo II o proteínas de unión a IGF y alterar la síntesis de proteína en las células. Por tanto, los análogos estructurales de IGF que cruzan las BBB, B-CNS-B o B-SC-B pueden usarse con los fines de esta invención.

El tratamiento del cerebro y la médula espinal es más complicado que el tratamiento del sistema nervioso periférico debido a que las B-CNS-B, B-SC-B y BBB plantean un obstáculo para el suministro de agentes farmacéuticos, particularmente proteínas y péptidos, al sistema nervioso central. Estas barreras se cree que previenen en gran medida la captación y penetración de proteínas y péptidos tales como IGF, y estas preocupaciones se aplicarían igualmente bien a análogos estructurales de IGF. La solicitante ha mostrado anteriormente que IGF-I o IGF-II pueden cruzar desde la sangre al LCR y normalizar la bioquímica cerebral en la enfermedad, prevenir la pérdida de axones en la médula espinal y prevenir el daño funcional al sistema nervioso central. Por lo tanto, basándose en la investigación posterior, se espera que los análogos estructurales de IGF puedan cruzar igualmente desde la sangre al líquido cefalorraquídeo (LCR) y puedan prevenir lesiones, enfermedades o trastornos en el sistema nervioso central.

Los siguientes ejemplos muestran que los análogos estructurales de IGF pueden entrar en el LCR desde la circulación. En consecuencia, los análogos estructurales de IGF pueden efectuar cambios o tratar el sistema nervioso central. Los ejemplos muestran que hay un portador que lleva a los IGF desde la circulación al LCR, y las propiedades de este portador difieren de las proteínas de unión a IGF y receptores de IGF conocidos, tales como receptor de IGF de tipo I o receptor de IGF de tipo II. Los análogos de IGF en los ejemplos que incorporan al LCR incluyen des(1-3)IGF-I, [Leu²⁴]IGF-I y [Leu⁶⁰]IGF-I. Además, el IGF-II reduce la captación de IGF-I en el LCR, y esto es consistente con la competición por la captación por un portador de IGF común. La invención en sus aspectos más amplios no está limitada a los detalles específicos o ejemplos representativos descritos. Por ejemplo, basándose en la investigación posterior, se espera que los análogos estructurales de IGF que se incorporan en el LCR por este portador puedan usarse con los fines de esta invención. Aquellos análogos estructurales de IGF que se incorporan al LCR pueden servir como agonistas o antagonistas. Los antagonistas pueden ser útiles para inhibir el crecimiento de tumores cerebrales que pueden ser dependientes de IGF, por ejemplo. Los agonistas pueden ser útiles para tratar diversas enfermedades y trastornos cerebrales tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, esclerosis múltiple, apoplejía, traumatismo, demencia senil y similares.

ES 2 346 185 T3

En los ejemplos, se inyectaron por vía subcutánea análogos estructurales de IGF en ratas. 90 minutos después, se extrajeron plasma y LCR y se analizaron por ELISA (Tabla I).

TABLA I

Detección selectiva de hIGF-I y sus análogos por ELISA

	Muestra	DO (450) media ± DE	Valor de P
	Blanco	0,0 ± 0	
15	IGF-I humano (150 pg)	0,568 ± 0,113	0,001
	Des(1-3)hIGF-1 (150 pg)	0,276 ± 0,047	0,001
20	Leu ²⁴ hIGF-1 (150 pg)	0,661 ± 0,072	0,001
	IGF-II humano (150 pg)	0,004 ± 0,017	0,959
	Insulina (150 pg)	0,016 ± 0,006	0,903
25	LCR de rata (extraído)	0,018 ± 0,034	0,971
	Plasma de rata (extraído)	0,051 ± 0,037	0,818

Se sometieron hIGF-I y otras proteínas a la ELISA mostrada en la FIG. 1. Se ensayó LCR y plasma de rata no tratada en los mismos volúmenes ensayados a lo largo de estos experimentos. Obsérvese que IGF-I, IGF-II, insulina e IGFBP de rata en LCR y plasma no interfieren con la ELISA. Los valores son medias ± DE de cuatro medidas por duplicado.

El ELISA detectó IGF-I humano y análogos estructurales de IGF. Sin embargo, el ELISA no detectó IGF-II ni insulina. Además, nada en el LCR o plasma de rata no tratada interfirió con el ELISA, mostrando que este ensayo era específico de IGF-I humano y análogos estructurales de IGF. En otras palabras, el IGF-I endógeno de rata, IGF-II de rata, insulina de rata y otras sustancias de rata en LCR o plasma no interferían en el ELISA. La Fig. 1 muestra curvas de ELISA estándar para diferentes concentraciones de IGF-I humano, des(1-3)IGF-I, [Leu²⁴]IGF-I y [Leu⁶⁰]IGF-I.

Se inyectaron por vía subcutánea a ratas adultas diversas dosis de IGF-I humano. La Fig. 2 muestra que el IGF-I en plasma aumentaba linealmente con la dosis. Sin embargo, la captación de IGF-I en LCR se saturaba al aumentar la dosis, mostrando que la captación era mediante un portador de captación de IGF. La Fig. 3 muestra que el IGF-II competía con el IGF-I por la captación en LCR.

55 Ejemplos

Ejemplo 1

A Des(1-3)IGF-I le faltan los 3 primeros aminoácidos desde el extremo N, dando como resultado una afinidad reducida al menos 25 veces por la proteína de unión a IGF 3 (IGFBP-3), IGFBP-4 e IGFBP-5. La unión a IGFBP-1 se reduce también. El des(1-3)IGF-I se une al receptor de IGF de tipo I y tiene una actividad biológica potenciada sobre neuronas. Es más potente debido a la unión reducida a IGFBP. La Fig. 4 muestra que el des(1-3)IGF-I administrado por vía subcutánea se incorpora al líquido cefalorraquídeo en ratas adultas. Por lo tanto, la unión de IGF e IGF mutantes a IGFBP-1, 3, 4 y 5 no es necesaria para la incorporación a LCR, y la molécula portadora de captación de IGF no tiene las características de IGFBP-1, 3, 4 ó 5.

Ejemplo 2

Se sustituye Leu por Thr en posición 24 en [Leu²⁴]IGF-I. Después de la inyección subcutánea de [Leu²⁴]IGF-I en ratas adultas, se detectó fácilmente en líquido cefalorraquídeo (Fig. 5). Esto, junto con los ejemplos 1 y 3, muestra que los análogos estructurales de IGF con diversas deleciones o sustituciones pueden incorporarse al LCR desde la circulación.

Ejemplo 3

Leu se ha sustituido por Tyr en posición 60 en [Leu⁶⁰]IGF-I, que tiene una afinidad reducida 20 veces por el receptor de IGF de tipo I. Después de la inyección subcutánea de [Leu⁶⁰]IGF-I a ratas adultas, se detectó fácilmente en líquido cefalorraquídeo (Fig. 5). Esto muestra que la unión a receptor de IGF de tipo I no es necesaria para la captación de IGF, y que la molécula portadora de IGF no tiene las características del receptor de IGF de tipo I.

Des(1-3)IGF-I e IGF-I no se unen apreciablemente al receptor de IGF de tipo II, aunque ambos ligandos se incorporan al LCR después de administración intravenosa. Por tanto, la unión a receptor de IGF de tipo II no es necesaria para la captación de IGF en LCR, y la molécula portadora de IGF no tiene las características del receptor de IGF de tipo II.

La captación de factores de crecimiento de tipo insulina (IGF) desde la circulación al líquido cefalorraquídeo (LCR) es consistente con una proteína portadora de transporte. Esta proteína portadora no tiene las mismas propiedades que los receptores de IGF de tipo I o tipo II o las proteínas de unión a IGF. En consecuencia, el vehículo tiene propiedades distintas que las moléculas de unión a IGF anteriormente caracterizadas.

Por lo tanto, se muestra que los análogos estructurales de IGF entran en el LCR a través de las BBB, B-LCR-B y/o B-SC-B en un mamífero. Esta invención tiene la ventaja de que los IGF mutantes y análogos de IGF pueden administrarse desde fuera de la BBB, B-LCR-B y B-SC-B, y no sería necesario usar procedimientos de administración invasivos y más arriesgados tales como intracraneal o intratecal. El riesgo y el coste de la cirugía y el riesgo de infección del SNC pueden evitarse por la invención.

REIVINDICACIONES

5 1. Uso de un análogo estructural de IGF en la preparación de un medicamento para tratar el sistema nervioso central, en el que el medicamento es para tratar o prevenir lesión neuronal en el sistema nervioso central, excepto cuando la enfermedad es esclerosis lateral amiotrófica, en el que el medicamento es para administración en columna no intracraneal y no intravertebral.

10 2. El uso de la reivindicación 9, en el que la lesión es debida a un trastorno o enfermedad del sistema nervioso central.

3. El uso de la reivindicación 1 ó 2, en el que la lesión es debida a un tumor o cáncer.

15 4. El uso de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la lesión neuronal en el sistema nervioso central es debida a un trastorno o enfermedad en el cerebro o la médula espinal después del nacimiento.

20 5. El uso de la reivindicación 4, en el que la lesión neuronal en el cerebro es debida a encefalopatía hepática, enfermedad de Pick, enfermedad de Huntington, esclerosis cerebral difusa de Schilder, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el SIDA, demencia senil, apoplejía, traumatismo, síndromes ganglionares corticobasales, demencia progresiva, demencia familiar con paraparesia espástica, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis múltiple o encefalomiелitis hemorrágica necrosante aguda.

25 6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el análogo estructural de IGF es des(1-3)IGF-I humano.

7. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que el análogo estructural de IGF es [Arg³]IGF-I, [Leu²⁴]IGF-I, [Leu⁶⁰]IGF-I, R³IGF-I largo, des(1-6)IGF-II, [Gly¹]IGF-II, [Arg⁶]IGF-II o [Leu²⁷]IGF-II humanos.

30 8. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que el medicamento es tal que el análogo estructural de IGF puede administrarse en una cantidad de aproximadamente 0,01 µg/kg/día hasta aproximadamente 4 mg/kg/día.

9. El uso de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que la administración en columna no intracraneal y no intravertebral es percutánea, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intradérmica, por inhalación o intranasal.

35 10. Análogo estructural de IGF para uso en el tratamiento o la prevención administrativo en columna no intracraneal y no intravertebral de lesión neuronal en el sistema nervioso central, excepto cuando la enfermedad es esclerosis lateral amiotrófica.

40 11. El análogo estructural de IGF de la reivindicación 10, en el que el análogo estructural de IGF es [Arg³]IGF-I, [Leu²⁴]IGF-I, [Leu⁶⁰]IGF-I, R³IGF-I largo, des(1-6)IGF-II, [Gly¹]GF-II, [Arg⁶]IGF-II, [Leu²⁷]IGF-II o des(1-3)IGF-I humanos.

45 12. El análogo estructural de IGF para uso en las reivindicaciones 10 u 11, en el que la lesión es debida a un trastorno o enfermedad del sistema nervioso central.

13. El análogo estructural de IGF para uso en las reivindicaciones 10 u 11, en el que la lesión es debida a un tumor o cáncer.

50 14. El análogo estructural de IGF para uso en cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en el que la lesión neuronal en el sistema nervioso central es debida a un trastorno o enfermedad en el cerebro o la médula espinal después del nacimiento.

55 15. El análogo estructural de IGF para uso en la reivindicación 14, en el que la lesión neuronal en el cerebro es debida a encefalopatía hepática, enfermedad de Pick, enfermedad de Huntington, esclerosis cerebral difusa de Schilder, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el SIDA, demencia senil, apoplejía, traumatismo, síndromes ganglionares corticobasales, demencia progresiva, demencia familiar con paraparesia espástica, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis múltiple o encefalomiелitis hemorrágica necrosante aguda.

60

65

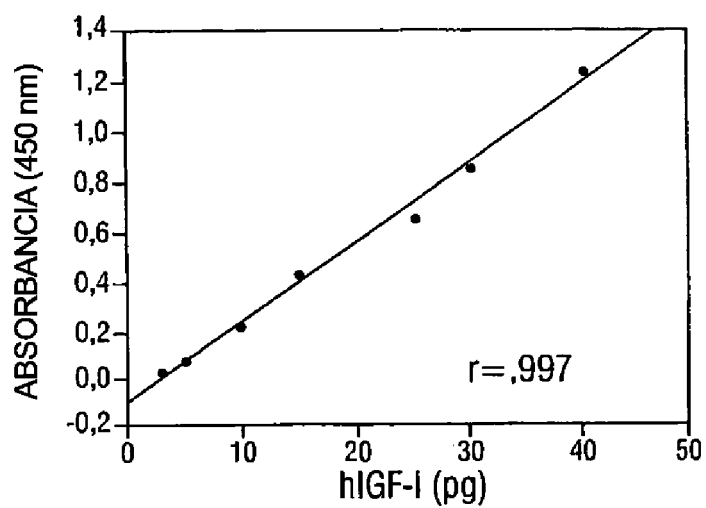


FIG. 1A

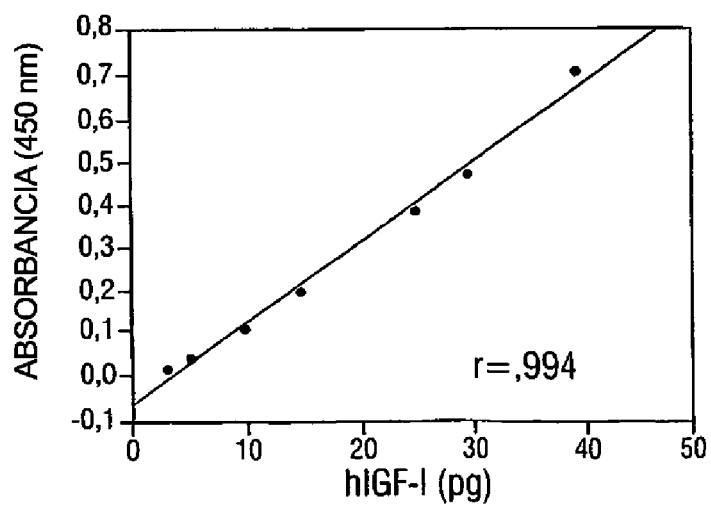


FIG. 1B

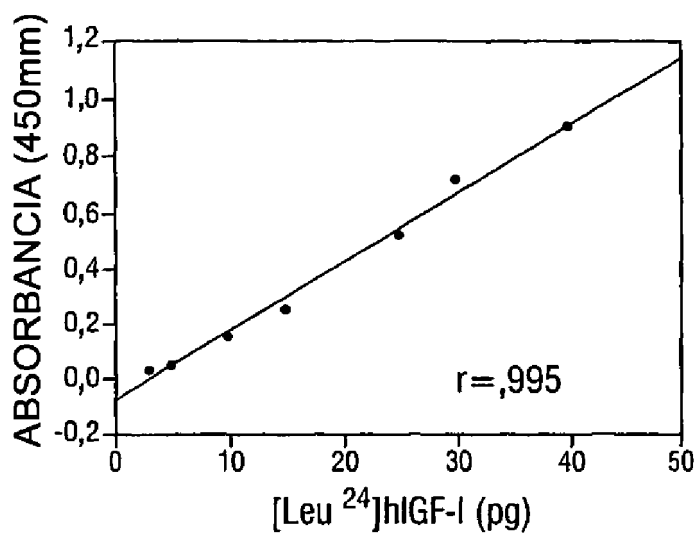


FIG. 1C

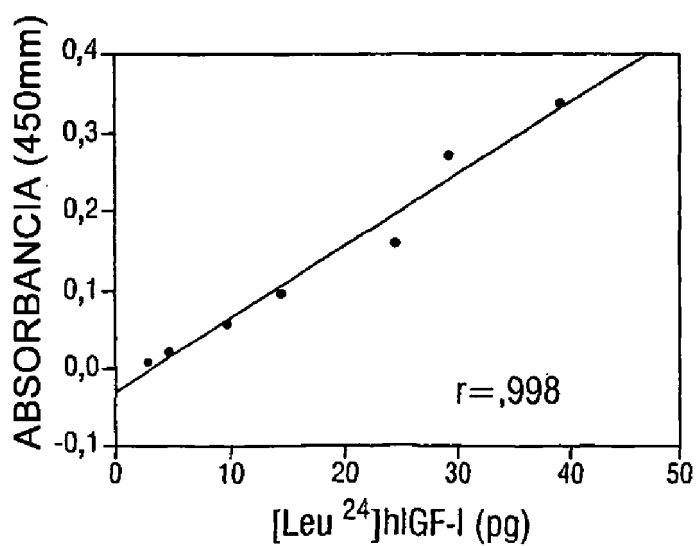


FIG. 1D

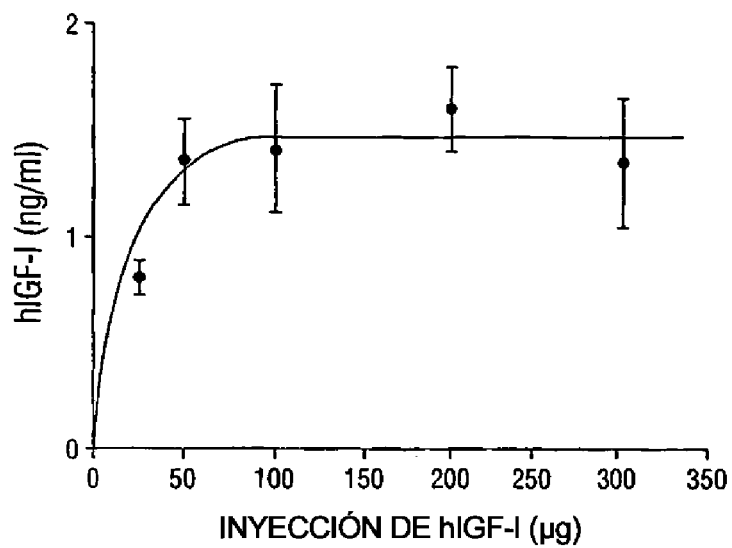


FIG. 2A

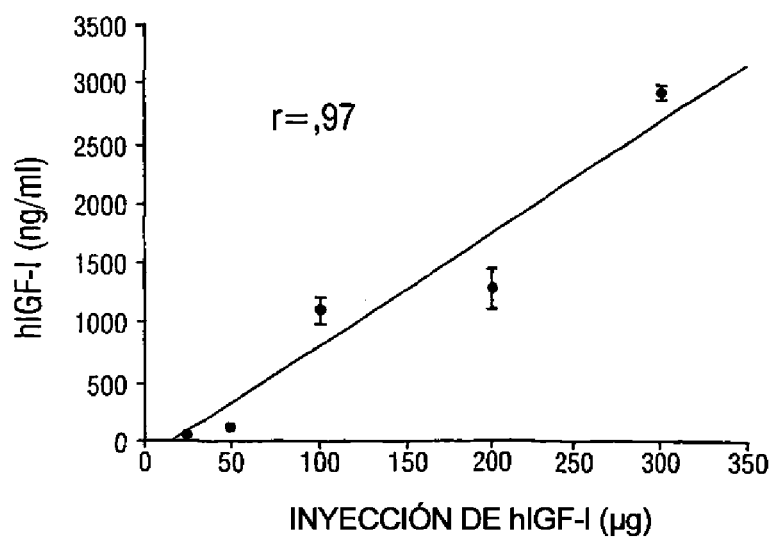


FIG. 2B

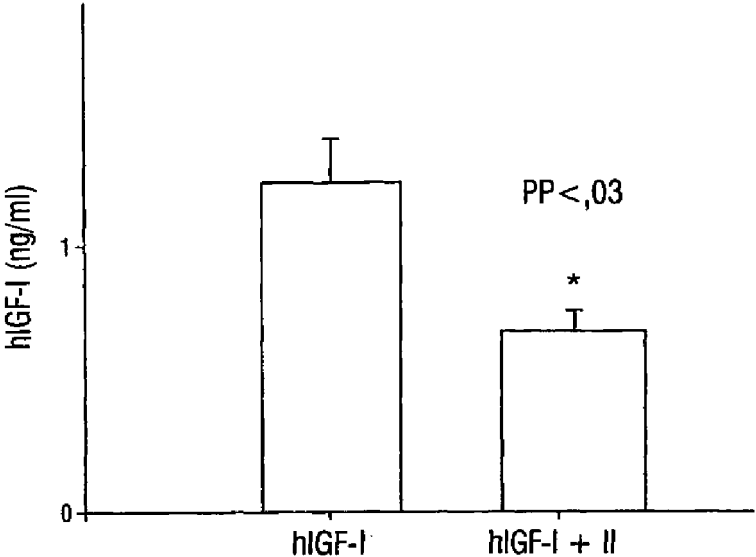


FIG. 3A

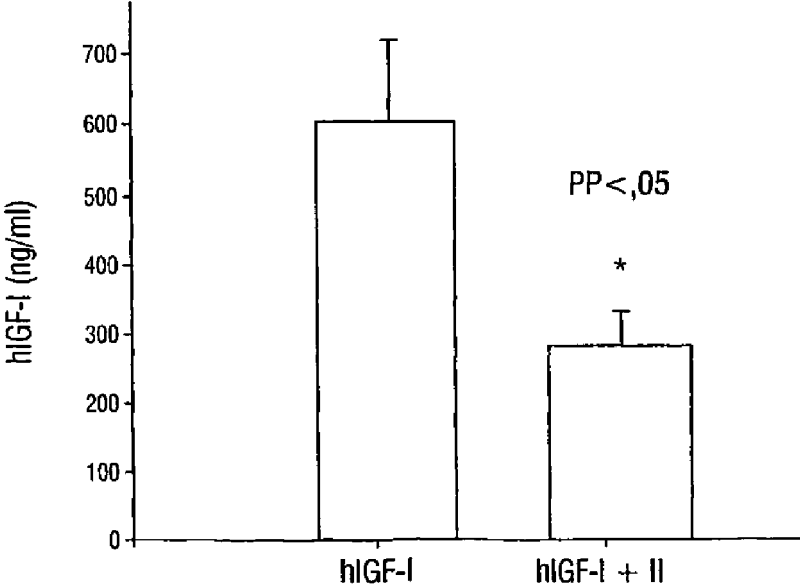


FIG. 3B

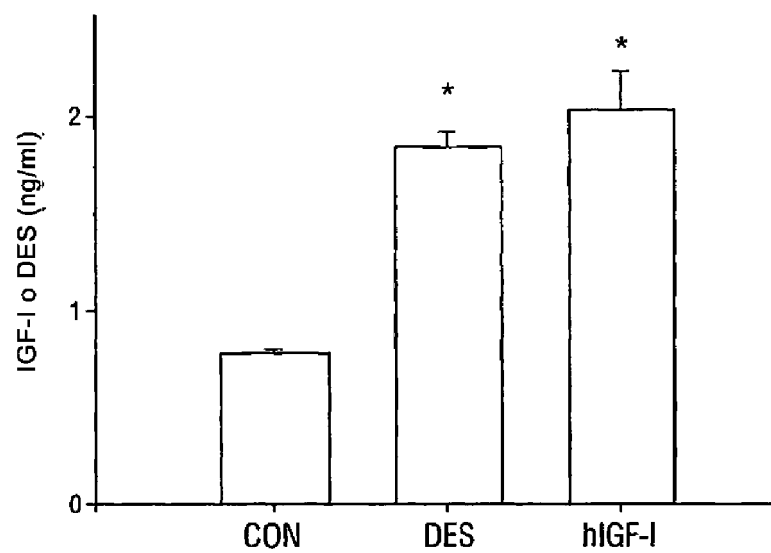


FIG. 4A

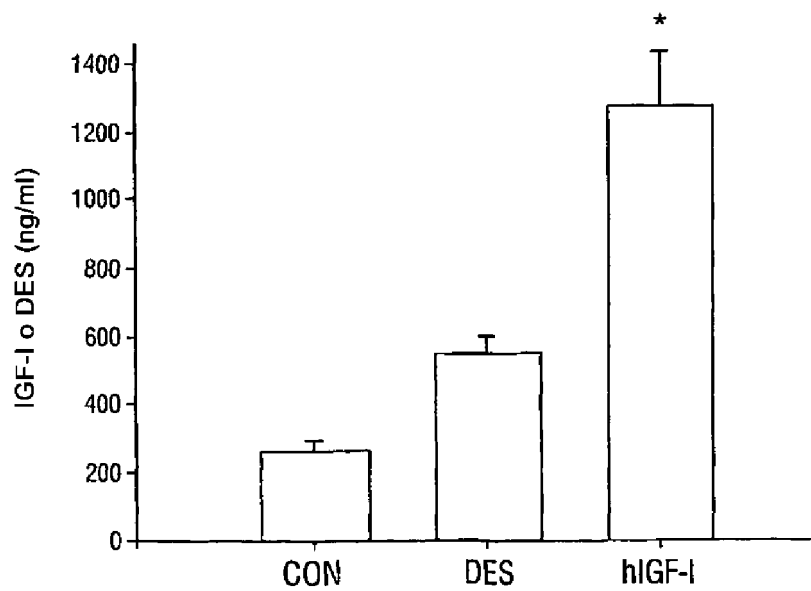


FIG. 4B

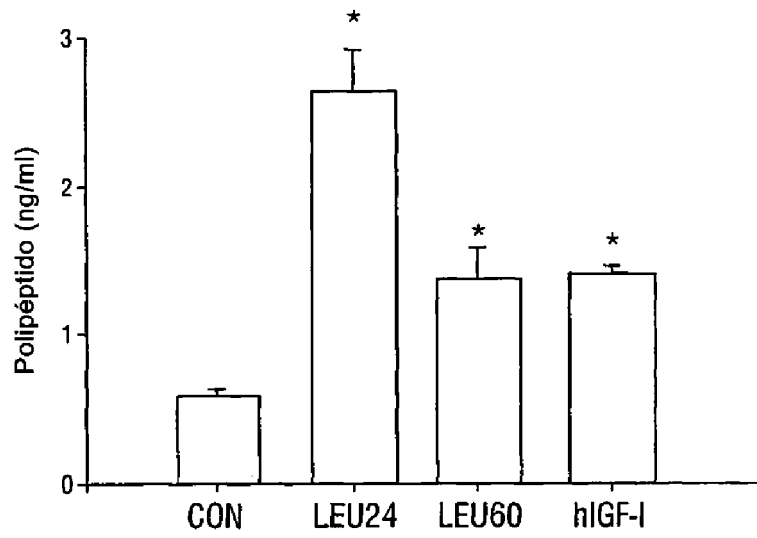


FIG. 5A

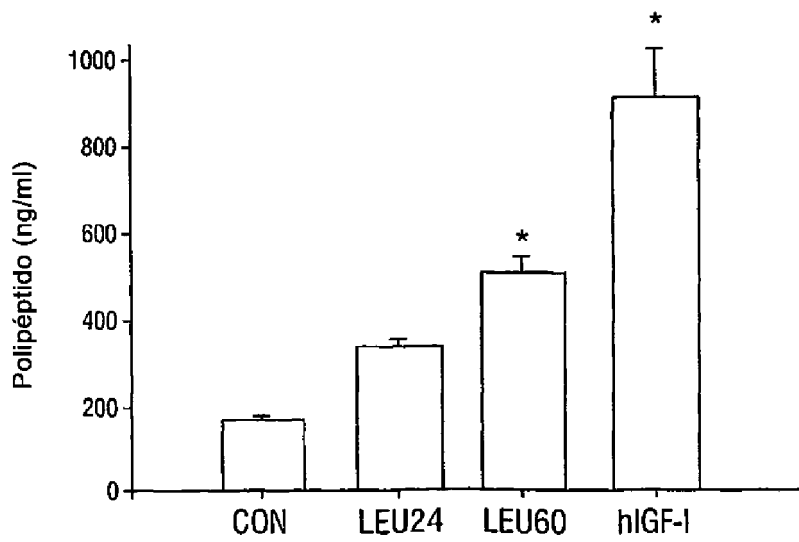


FIG. 5B