

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la  
Propiedad Intelectual  
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional  
03 de noviembre de 2022 (03.11.2022) **WIPO** | **PCT**

(10) Número de publicación internacional  
**WO 2022/229489 A2**

(51) Clasificación internacional de patentes:

*C07K 14/65* (2006.01) *A61P 25/16* (2006.01)  
*A61K 38/30* (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:

PCT/ES2022/070263

(22) Fecha de presentación internacional:

28 de abril de 2022 (28.04.2022)

(25) Idioma de presentación:

español

(26) Idioma de publicación:

español

(30) Datos relativos a la prioridad:

P202130377 28 de abril de 2021 (28.04.2021) ES

(71) Solicitantes: **UNIVERSIDAD DE MÁLAGA** [ES/ES];  
Avda Cervantes, 2, 29071 Málaga (ES). **SERVICIO AN-  
DALUZ DE SALUD** [ES/ES]; Avda de la Constitución, 18,  
41071 Sevilla (ES).

(72) Inventores: **GARCIA FERNANDEZ, María Inmacula-  
da**; IBIMA, Instituto de Investigación Biomédica de Mála-  
ga, C/ Doctor Miguel Díaz Recio, 28, 29010 Málaga (ES).  
**MARTIN MONTAÑEZ, Elisa**; IBIMA, Instituto de In-  
vestigación Biomédica de Málaga, C/ Doctor Miguel Díaz  
Recio, 28, 29010 Málaga (ES). **LARA FERNANDEZ, Es-  
trella**; OTRI - Universidad de Málaga, C/ Severo Ochoa, 4  
(P.T.A.), Campanillas, 29590 Málaga (ES). **VALVERDE  
MORENO, Nadia**; IBIMA, Instituto de Investigación Bio-  
médica de Málaga, C/ Doctor Miguel Díaz Recio, 28, 29010  
Málaga (ES). **PAVIA MOLINA, José**; IBIMA, Instituto de  
Investigación Biomédica de Málaga, C/ Doctor Miguel Díaz  
Recio, 28, 29010 Málaga (ES). **LADRON DE GUEVARA  
MIRANDA, David**; OTRI - Universidad de Málaga, C/ Se-  
vero Ochoa, 4 (P.T.A.), Campanillas, 29590 Málaga (ES).  
**SANTIN NUÑEZ, Luis Javier**; IBIMA, Instituto de Inves-  
tigación Biomédica de Málaga, C/ Doctor Miguel Díaz Re-  
cio, 28, 29010 Málaga (ES). **MILLON PEÑUELA, Car-  
melo**; IBIMA, Instituto de Investigación Biomédica de Má-  
laga, C/ Doctor Miguel Díaz Recio, 28, 29010 Málaga (ES).  
**ROMERO ZERBO, Silvana Yanina**; IBIMA, Instituto de

Investigación Biomédica de Málaga, C/ Doctor Miguel Díaz  
Recio, 28, 29010 Málaga (IT).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección nacional admisible): AE, AG,  
AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,  
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK,  
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE,  
KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU,  
LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,  
NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,  
RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH,  
TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS,  
ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección regional admisible): ARIPO  
(BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL,  
ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG,  
KZ, RU, TJ, TM), europea (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ,  
DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT,  
LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI,  
SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,  
GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Publicada:**

- sin informe de búsqueda internacional, será publicada  
nuevamente cuando se reciba dicho informe (Regla 48.2(g))
- con la parte de lista de secuencias de la descripción (Regla  
5.2(a))

(54) Title: TREATMENTS FOR PARKINSON'S DISEASE

(54) Título: TRATAMIENTOS DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON

(57) Abstract: The present invention relates to the use of a specific insulin-like growth factor 2 (IGF-2) receptor agonist for the treatment of Parkinson's disease and the disorders associated with Parkinsonism. The invention further relates to compositions that comprise a specific IGF-2 receptor agonist and a compound suitable for the treatment of a disease associated with the formation of amyloid deposits, and to the medical uses of said composition. The invention further relates to an in vitro method for identifying a compound suitable for the treatment and/or prevention of Parkinson's disease and the disorders associated with Parkinsonism.

(57) Resumen: La presente invención se refiere al uso de un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo. La invención también se refiere a composiciones que comprenden un agonista específico del receptor IGF-II y un compuesto adecuado para el tratamiento de una enfermedad asociada con la formación de depósitos amiloides, y a los usos médicos de dicha composición. La invención también se refiere a un método in vitro para identificar un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.



WO 2022/229489 A2

## **DESCRIPCIÓN**

### **Tratamientos de la enfermedad de Parkinson**

#### **5 SECTOR DE LA TÉCNICA**

La presente invención está encuadrada dentro del campo de la biomedicina. Se refiere específicamente a los agonistas del receptor del factor de crecimiento de la insulina y su uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

10

#### **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La enfermedad de Parkinson es una alteración del movimiento voluntario en la que los músculos se vuelven rígidos y lentos, el movimiento se vuelve torpe y difícil y las sacudidas rítmicas e incontrolables de grupos de músculos producen un temblor característico. Se cree que la enfermedad está causada por una degeneración de las neuronas dopaminérgicas presinápticas en el cerebro. La ausencia de una liberación adecuada del transmisor químico dopamina durante la actividad neuronal conduce así a la sintomatología parkinsoniana.

20 Actualmente, el tratamiento más utilizado para la enfermedad de Parkinson es la administración de L-DOPA, un precursor de la dopamina que actúa indirectamente sustituyendo la dopamina que falta. Sin embargo, el uso de la L-DOPA conlleva desventajas, por ejemplo, los pacientes suelen sufrir efectos secundarios como la discinesia y los efectos on-off, y es necesario administrar la L-DOPA junto con un  
25 inhibidor periférico de la dopa-decarboxilasa, como la carbidopa o la benzaserida. Estos inhibidores impiden la degradación periférica de la levodopa en dopamina, permitiendo así que entre más fármaco en el cerebro y limitando los efectos secundarios periféricos. Este tratamiento mejora la calidad de vida de los pacientes, pero no detiene la progresión de la enfermedad. Además, dicho tratamiento se asocia  
30 a una serie de efectos adversos, como náuseas, vómitos, distensión abdominal y efectos secundarios psiquiátricos (por ejemplo, estados confusos tóxicos, paranoia y alucinaciones).

Una forma alternativa de terapia es la administración de agonistas dopaminérgicos postsinápticos, por ejemplo, alcaloides del cornezuelo de centeno como la

bromocriptina, sin embargo, este enfoque también está asociado a efectos secundarios. Por ejemplo, los pacientes que reciben bromocriptina suelen experimentar problemas de disquinesia y en un pequeño número de casos experimentan fenómenos vasoespásticos y angina. Además, la bromocriptina también  
5 provoca efectos secundarios psiquiátricos, como alucinaciones.

A la vista de lo anterior, es evidente que sigue siendo necesario suministrar medicamentos eficaces y seguros para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

## 10 BREVE EXPLICACIÓN DE LA INVENCION

Los autores de la invención han descubierto que el IGF-2 tiene efectos antioxidantes y neuroprotectores sobre células positivas para tirosina hidroxilasa (TH)+ (células dopaminérgicas), especialmente a nivel mitocondrial, donde el IGF-2 protege a las  
15 células del daño oxidativo e inhibe la muerte celular en áreas motoras específicas, evitando la aparición de los síntomas motores de la enfermedad de Parkinson.

Más concretamente, los inventores han demostrado que, en células dopaminérgicas de la sustancia negra incubadas con 1-metil-4-fenilpiridinio (MPP+), el tratamiento con IGF-2 llevó a una disminución de ciertos parámetros que estaban aumentados como  
20 consecuencia del daño causado por la presencia de MPP+, como la muerte celular, la peroxidación de lípidos, la oxidación de proteínas, la producción de radicales superóxido, los niveles de la enzima mitocondrial SOD inducible, así como el daño mitocondrial. Asimismo, el IGF-2 fue capaz de restaurar la actividad de la enzima diaforasa, de aumentar la actividad de la glutatión-S-transferasa, así como de restaurar  
25 la expresión de la enzima TH, a través del receptor del IGF. Estos resultados también se han confirmado en ratones expuestos al tóxico 1-metil-4-fenil-1,2,3,6 tetrahidropiridina (MPTP), donde los inventores han demostrado que el IGF-2 reduce el daño neuronal, el tiempo de latencia en la prueba de función motora Rotarod, así como la mortalidad. Los inventores también han demostrado que la acción del IGF-2  
30 tiene lugar a través del receptor IGF-2R, por lo que apoyan la idoneidad de los agonistas del IGF-2R para tratar la enfermedad de Parkinson y otros trastornos asociados al parkinsonismo.

Así, en un primer aspecto la invención se refiere a un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) o a una sal farmacéuticamente

aceptable del mismo para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de Parkinson y de los trastornos asociados al parkinsonismo.

En un segundo aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) y un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

En un tercer aspecto, la invención se refiere a la composición del segundo aspecto de la invención para su uso en medicina.

En un cuarto aspecto, la invención se refiere a la composición del segundo aspecto de la invención para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

Por último, la invención se refiere a un método in vitro para identificar un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo que comprende

(a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que exprese el receptor del IGF-2 en condiciones adecuadas para la unión del compuesto y el receptor del IGF-2 y

(b) determinar la actividad del receptor del IGF-2,

donde si la actividad del receptor del IGF-2 después de entrar en contacto con el compuesto candidato es mayor que un valor de referencia, el compuesto candidato es adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

## BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

25

**Figura 1:** Loci de rasgos cuantitativos de expresión (eQTL) entre el rs680 y el IGF-2 en la corteza frontal.

**Figura 2:** Inmunocitoquímica del receptor IGF-2 en las neuronas dopaminérgicas SN4741.

**Figura 3:** Diseño experimental para el estudio de los efectos neuroprotectores del IGF-2 sobre la supervivencia neuronal y la homeostasis redox.

**Figura 4:** Diseño experimental para el estudio de los efectos neuroprotectores del IGF-2 en un modelo de Parkinson en ratones.

**Figura 5:** Vías de homeostasis oxidativa, supervivencia y función neuronal con los parámetros estudiados.

- 5 **Figure 6:** Citotoxicidad del MPP<sup>+</sup> en las neuronas SN4741 tras 6 horas de incubación, en presencia del IGF-2, BMS (Bristol-Myers Squibb, CAS No. 468740-43-4) (antagonista de los receptores del IGF-I e insulina), AB (anticuerpo selectivo del IGF-2r). El daño celular se midió cuantificando la liberación de LDH expresada en % del control. a:  $p < 0,05$  frente a control, b:  $p < 0,05$  frente a MPP, c:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2, d:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2+BMS, e:  $p < 0,05$  frente a IGF-2.
- 10

**Figura 7:** Daño oxidativo evaluado como peroxidación lipídica y proteínas oxidadas por miligramo de proteína en las neuronas dopaminérgicas SN4741. a:  $p < 0,05$  frente a control, b:  $p < 0,05$  frente a MPP, c:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2, d:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2+AB

- 15 **Figura 8:** Producción de radical superóxido en las neuronas dopaminérgicas SN4741, determinada por citometría de flujo utilizando la sonda dihidroetidina.

**Figura 9:** Medición de la actividad de la enzima superóxido dismutasa mitocondrial en las neuronas dopaminérgicas SN4741. a:  $p < 0,05$  frente al control, b:  $p < 0,05$  frente al MPP, c:  $p < 0,05$  frente al MPP+IGF-2, d:  $p < 0,05$  frente al MPP+IGF-2+AB.

- 20 **Figura 10:** Medición del potencial de la membrana mitocondrial por citometría de flujo utilizando JC-1 como marcador, y de la actividad de la citocromo c oxidasa en las neuronas dopaminérgicas SN4741. a:  $p < 0.05$  vs control, b:  $p < 0.05$  vs MPP, c:  $p < 0.05$  vs MPP+IGF-2, d:  $p < 0.05$  vs MPP+IGF-2+AB.

- 25 **Figura 11:** Microscopía electrónica de las mitocondrias de las neuronas dopaminérgicas SN4741. CO: neuronas no tratadas, IGF-2: neuronas tratadas con 25 ng/ml del IGF-2, MPP: neuronas tratadas con 400  $\mu$ M de MPP<sup>+</sup>, MPP+IGF-2: neuronas tratadas con IGF-2 en presencia de MPP.

- Figura 12:** Medición de la actividad enzimática de la enzimas glutatión S-transferasa y la diaforasa en las neuronas dopaminérgicas SN4741. a:  $p < 0,05$  frente a control, b:  $p < 0,05$  frente a MPP, c:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2, d:  $p < 0,05$  frente a MPP+IGF-2+AB.
- 30

**Figura 13:** Microscopía confocal de la inmunocitoquímica de la tirosina hidroxilasa (TH) en las neuronas dopaminérgicas SN4741. a:  $p < 0,05$  vs control, b:  $p < 0,05$  vs MPP.

**Figura 14:** Estudio del efecto de Leu[27]IGF, un agonista completo del IGF-2r, sobre los siguientes parámetros: supervivencia neuronal (A), producción de ROS (B), potencial de membrana de las mitocondrias (C), proteínas oxidadas (D), actividad de enzimas antioxidantes (E) y expresión de TH neuronal (F). a:  $p < 0,05$  vs control, b:  $p < 0,05$  vs MPP.

**Figura 15:** Análisis estereológico e imágenes representativas de la inmunohistoquímica de TH en neuronas de sustancia negra compacta en ratones C57BL/6J tratados con IGF-2 o vehículo en el caso de los controles, en presencia o ausencia de MPTP (más probenecid) durante 44 días. \*  $p < 0,05$  frente a otros grupos.

**Figura 16:** Determinación de la actividad motora mediante Rotarod en ratones tratados con IGF-2 en presencia o ausencia de MPTP. Latencia media del Rotarod a la caída (A) y correlación entre la latencia del Rotarod a la caída y las neuronas TH positivas en la SNc (B). \*  $p < 0,05$  frente a otros grupos.

**Figura 17:** Efecto de la administración del IGF-2 en la supervivencia de los ratones en el modelo de toxicidad inducida por MPTP.

## REALIZACIÓN PREFERENTE DE LA INVENCION

### Agonista específico del IGF-2R y sus usos

En un primer aspecto, la invención se refiere a un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

Un "agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2R)" o "agonista específico del IGF-2R" se refiere a un ligando que se une al receptor IGF-2 con mayor afinidad que a los otros subtipos de receptores de insulina y que, al unirse, imita los efectos de la unión del ligando endógeno. En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R se une al mismo sitio de unión del IGF-2R que el IGF-2. En una realización particular, dicho sitio de unión está en el segmento 11 del ectodominio del IGF-2R, con residuos en el dominio 13 que aumentan la afinidad

de la interacción (Olson LJ et al., *Glycobiology* 2015, 25, 591-606, Dahms et al., *J Biol Chem* 1994, 269(5): 3802-9 y Garmroudi y MacDonald, *J Biol Chem* 1994, 269(43): 26944-52). En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R imita el efecto de la unión del IGF-2 al IGF-2R. En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R se une al mismo sitio de unión del IGF-2R que el IGF-2 e imita el efecto de la unión del IGF-2 al IGF-2R. El término agonista específico del IGF-2R incluye el ligando endógeno del IGF-2R, es decir, el IGF-2.

Como sabrá el experto, para determinar si un compuesto es un agonista específico del IGF-2R es necesario utilizar dos tipos de ensayos: ensayos capaces de determinar si dicho compuesto se une específicamente al IGF-2R y ensayos capaces de determinar si dicho compuesto imita el efecto del ligando endógeno del IGF-2R, en este caso, el efecto desencadenado por la unión del IGF-2 al IGF-2R. Los ensayos capaces de determinar si un compuesto se une específicamente al IGF-2R incluyen, sin limitación, ensayos de unión de ligandos e inmunohistoquímica, como, por ejemplo, los ensayos descritos en Asha Amritraj et al., *Endocrinology*, 2012, 153, 4784-4798 y Cheryl Hawkes et al., *J Neuroscience* 2006; 26: 585-596. Se han descrito varios efectos desencadenados por la unión del IGF-2 a IGF-2R, tales como:

- entrada de calcio en fibroblastos de embrión de ratón (Nishimoto I, et al., *J Biol Chem.* 1987; 262(25):12120-6) y en osteoblastos de cráneo de rata (Martinez DA, et al., *J Cell Biochem*, 1995; 59(2):246-57) y
- aumento de la fosforilación de proteínas (Hammerman MR, Gavin JR 3rd, *J Biol Chem.* 1984; 259(21):13511-7) y
- aumento de la alcalinización en las células del túbulo renal proximal (Mellas J, Gavin JR 3rd, Hammerman MR, *J Biol Chem.* 1986; 261(31):14437-42),
- estimulación del intercambio  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  y de la producción de inositol trisfosfato en células renales caninas (Rogers SA, Hammerman MR, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988; 85(11):4037-41),
- aumento de la captación de aminoácidos en células musculares (Shimizu M, et al., *Am J Physiol.* 1986; 251(5 Pt 1):E611-5),
- aumento de la síntesis de glucógeno en células de hepatoma (Hari J, et al., *EMBO J.* 1987; 6(11):3367-71) y
- la síntesis de proteoglicanos en células de condrosarcoma humano (Takigawa

M, et al., *Endocrinology*. 1997; 138(10):4390-400),

- movilización de calcio en condrocitos articulares de conejo (Poiraudau S, et al., *J Cell Biochem*. 1997; 64(3):414-22), la motilidad celular en células de rabdomiosarcoma (El-Badry OM, et al., *Cell Growth Differ*. 1990; 1(7):325-31 y Minniti CP, et al., *J Biol Chem*. 1992; 267(13):9000-4), la actividad de la aromatasa en los citotrofblastos de la placenta (Nestler JE, *Endocrinology*. 1990; 127(5):2064-70),
- la migración de trofoblastos extravellosos humanos (McKinnon T, et al., *J Clin Endocrinol Metab*. 2001; 86(8):3665-74), exocitosis de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas Zhang Q, et al., *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997; 94(12):6232-7)
- regulación de la liberación endógena de acetilcolina y GABA en el cerebro de la rata adulta (Hawkes C, et al., *J Neurosci*. 2006; 26(2):585-96 y Amritraj A, et al., *Neuroscience*. 2010; 170(3):722-30).

Ejemplos no limitantes de ensayos capaces de determinar si un compuesto que se une a IGF- 2R imita el efecto de la unión del IGF-2 a IGF-2R incluyen, sin limitación, los siguientes:

- Medición de la proliferación de las células CHO tras la estimulación con el agonista específico. Típicamente, la estimulación de las células CHO con 75 ng/ml del IGF-2 alcanza una velocidad máxima de estimulación igual a la que se obtiene con insulina a 8 ng/ml (Mamounas M et al., 1989, *PNAS*, vol. 86, pp 9294-9298). Los expertos en la materia también podrían medir la activación del IGF-2R y diseñar ensayos específicos capaces de analizar su activación.
- La medición de los niveles de fosfoproteína quinasa  $C\alpha$  (PKC $\alpha$ ) intracelular o de sus sustratos dependientes MARCKS y GAP-43, como se describe en Hawkes et al., *The Journal of Neuroscience*, 2006, 26(2): 585-596.

El "receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 2" (IGF2R), también llamado "receptor de manosa 6-fosfato independiente de cationes" (CD-MPR), es una proteína que en humanos está codificada por el gen IGF2R. El gen humano aparece en la base de datos con el número de acceso ENSG00000197081 (Ensembl publicada 102, noviembre de 2020). El IGF2R es un receptor proteico multifuncional que se une al factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGF2) en la superficie celular y a proteínas que contienen residuos manosa-6-fosfato (M6P) en la red trans-Golgi.

El sistema del IGF incluye cuatro receptores: el receptor de la insulina (IR), el IGF-1R, el IGF-2R y los receptores híbridos que consisten en medio IR y medio IGF-1R. Estos receptores interactúan con tres ligandos principales: la insulina, el IGF-1 y el IGF-2. El IR, el IGF-1R y el IGF 2R tienen la mayor afinidad de unión a sus respectivos ligandos, mientras que la unión de la insulina al IGF-1R y del IGF-1 al IR es al menos 100 veces menor. La señalización del IGF-1 e IGF-2 está mediada por el IGF-1R; pero el IGF-1 tiene una afinidad de unión al menos 3 veces mayor que el IGF-2. En otra realización, el agonista específico del IGF-2R se une al receptor del IGF-2 con una afinidad aproximadamente 1000 veces mayor que el IGF-I y no interactúa con la insulina. El agonista específico del IGF-2R puede aumentar específicamente la actividad de señalización mediada por el IGF-2R. Por específico se entiende que el agonista del IGF-2R activa preferentemente el IGF-2R en relación con el IGF-1R, es decir, a una concentración dada, el agonista específico del IGF-2R aumenta la señalización mediada por el IGF-2R en mayor medida que la que aumenta la señalización mediada por el IGF-1R. En algunas realizaciones, el agonista específico del IGF-2R se une a IGF-2R con una afinidad que es al menos 1,2 veces, al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 5 veces, al menos 10 veces, al menos 15 veces, al menos 20 veces, al menos 25 veces, al menos 30 veces, al menos 35 veces, al menos 40 veces, al menos 45 veces, al menos 50 veces, al menos 75 veces, al menos 100 veces más fuerte que su afinidad de unión a IGF-1R. En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R se une a IGF-2R con una afinidad que es al menos entre 20 veces y 50 veces más fuerte que su afinidad para unirse a IGF-1R, más particularmente entre 24 veces y 45 veces. La afinidad de un agonista para unirse a IGF1R o IGF-2R puede determinarse utilizando un ensayo de unión como, por ejemplo, el descrito por Beukers et al., Endocrinology 1991; 1201-1203; Rongshi Li et al., J Med Chem. 2009; 52: 4981-5004; Hawkes C et al., J Neuroscience 2006;26:585-596. En algunas realizaciones, el agonista específico del IGF-2R no se une de forma detectable al IGF-1R. En algunas realizaciones, el agonista específico del IGF-2R activa la señalización del IGF-2R a un nivel que es al menos 1,2 veces, al menos 1,5 veces, al menos 2 veces, al menos 5 veces o al menos 10 veces mayor que el que activa la señalización del IGF-1R. En algunas realizaciones, el agonista específico del IGF-2R no activa un nivel detectable del IGF-1R. Ejemplos no limitantes de agonistas específicos del IGF-2R incluyen, sin limitación, IGF-2, Leu[27]IGF-2, M6PRBP1, (Arg6) IGF-2 y Des [1-6] Factor de Crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2).

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellas sales que conservan la

eficacia biológica y opcionalmente otras propiedades de las bases libres y que se obtienen por reacción con ácidos inorgánicos u orgánicos como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido nítrico, el ácido fosfórico, el ácido metanosulfónico, el ácido etanosulfónico, el ácido p-toluenosulfónico, el ácido salicílico, el ácido málico, el ácido maleico, el ácido succínico, el ácido tartárico, el ácido cítrico y similares.

En el caso de que las realizaciones de los compuestos divulgados formen sales, estas sales están dentro del alcance de la presente invención. La referencia a un compuesto o a un compuesto utilizado en la composición o en la composición farmacéutica de la invención aquí descrita se entiende que incluye la referencia a las sales del mismo, a menos que se indique lo contrario. El término "sal(es)", tal y como se emplea aquí, denota sales ácidas y/o básicas formadas con ácidos y bases inorgánicas y/u orgánicas. Además, cuando un compuesto contiene tanto una fracción básica como una fracción ácida, pueden formarse zwitteriones ("sales internas") que se incluyen en el término "sal(es)" tal como se emplea aquí. Se prefieren las sales farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, no tóxicas, fisiológicamente aceptables), aunque también son útiles otras sales, por ejemplo, en los pasos de aislamiento o purificación que pueden emplearse durante la preparación. Las sales de los compuestos pueden formarse, por ejemplo, haciendo reaccionar el compuesto con una cantidad de ácido o base, como una cantidad equivalente, en un medio como uno en el que la sal precipita o en un medio acuoso seguido de liofilización.

Las realizaciones de los compuestos que contienen una fracción básica pueden formar sales con una variedad de ácidos orgánicos e inorgánicos. Ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen acetatos (como los formados con ácido acético o ácido trihaloacético, por ejemplo, ácido trifluoroacético), adipatos, alginatos, ascorbatos, aspartatos, benzoatos, bencenosulfonatos, bisulfatos, boratos, butiratos, citratos, canforatos, alcanforesulfonatos, ciclopentanopropionatos, digluconatos, dodecilsulfatos, etanosulfonatos, fumaratos, glucoheptanoatos, glicerofosfatos, hemisulfatos, heptanoatos, hexanoatos, hidroclouros (formados con ácido clorhídrico), hidrobromuros (formados con bromuro de hidrógeno), hidroyoduros, 2-hidroxietanosulfonatos, lactatos, maleatos (formados con ácido maleico), metanosulfonatos (formados con ácido metanosulfónico), 2-naftalenosulfonatos, nicotinatos, nitratos, oxalatos, pectinatos, persulfatos, 3-fenilpropionatos, fosfatos, picratos, pivalatos, propionatos, salicilatos, succinatos, sulfatos (como los que se

forman con ácido sulfúrico), sulfonatos (como los mencionados en este documento), tartratos, tiocianatos, toluenosulfonatos como tosilatos, undecanoatos, y similares.

Realizaciones de compuestos que contienen una fracción ácida pueden formar sales con una variedad de bases orgánicas e inorgánicas. Ejemplos de sales básicas  
5 incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos como las sales de sodio, litio y potasio, sales de metales alcalinotérreos como las sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas (por ejemplo, aminas orgánicas) como las benzatinas diciclohexilaminas, hidrabaminas (formadas con N,N-  
bis(dehidroabietyl)etilendiamina), N-metil-D-glucaminas, N-metil-D-glucamidas, t-  
10 butilaminas y sales con aminoácidos como arginina, lisina y similares.

El término "prevención", "previniendo" o "prevenir", tal y como se utiliza aquí, se refiere a la administración del agonista específico del receptor IGF-2R a un sujeto al que no se le ha diagnosticado la enfermedad de Parkinson o los trastornos asociados al parkinsonismo, pero que normalmente se esperaría que desarrollara dicha  
15 enfermedad o que tuviera un mayor riesgo de padecerla. La prevención pretende evitar la aparición de la enfermedad. La prevención puede ser completa (por ejemplo, la ausencia total de la enfermedad). La prevención también puede ser parcial, de manera que, por ejemplo, la aparición de una enfermedad en un sujeto es menor que la que se habría producido sin la administración del inhibidor de la presente invención. La  
20 prevención también se refiere a la reducción de la susceptibilidad a una condición clínica.

El término "tratamiento", tal y como se utiliza en el presente documento, comprende cualquier tipo de terapia que tenga como objetivo terminar, prevenir, mejorar y/o reducir la susceptibilidad a una condición clínica tal y como se describe en el presente  
25 documento, por ejemplo, la enfermedad de Parkinson o los trastornos asociados al parkinsonismo. Por lo tanto, "tratamiento", "tratar" y similares, tal como se usan aquí, se refieren a la obtención de un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado, que abarca cualquier tratamiento de una condición o trastorno patológico en un mamífero, incluyendo un humano. El efecto puede ser profiláctico en términos de prevención total  
30 o parcial de un trastorno o síntoma del mismo y/o puede ser terapéutico en términos de curación parcial o completa de un trastorno y/o efecto adverso atribuible al trastorno. Es decir, el "tratamiento" incluye (1) evitar que el trastorno se produzca o reaparezca en un sujeto, (2) inhibir el trastorno, tal como detener su desarrollo, (3) detener o poner fin al trastorno o al menos a los síntomas asociados al mismo, de

modo que la persona ya no sufra el trastorno o sus síntomas, como provocar la regresión del trastorno o sus síntomas, por ejemplo, restaurando o reparando una función perdida, ausente o defectuosa, o estimulando un proceso ineficaz, o (4) paliando, aliviando o mejorando el trastorno o los síntomas asociados al mismo, donde  
5 mejorar se utiliza en un sentido amplio para referirse al menos a una reducción de la magnitud de un parámetro. "Tratamiento" también puede significar la prolongación de la supervivencia en comparación con la esperada si no se recibe tratamiento. Entre las personas que necesitan tratamiento se encuentran las que ya padecen la enfermedad o el trastorno, así como las que son propensas a padecerla o aquellas en las que se  
10 desea prevenirla.

En una realización particular, el agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es para su uso en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

Como se usa aquí, la "enfermedad de Parkinson" o "EP" se refiere a un desorden  
15 cerebral progresivo y neurodegenerativo que finalmente afecta el movimiento muscular de un individuo. Una característica distintiva de la EP es la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra pars compacta y la consecuente deficiencia de dopamina estriatal.

Muchos de los signos y síntomas asociados a la enfermedad de Parkinson pueden  
20 preceder a la enfermedad de Parkinson típica, en algunos casos durante muchos años. La afectación de la sustancia negra dopaminérgica, que subyace a las características motoras primarias de la enfermedad, se produce en un momento en el que la enfermedad está muy avanzada a nivel neuropatológico, una observación que puede explicar las dificultades para probar con éxito nuevos fármacos en busca de posibles  
25 propiedades moduladoras de la enfermedad sólo después de que ésta sea evidente. Los rasgos motores de la enfermedad de Parkinson se caracterizan por la rigidez muscular, el temblor, las anomalías de la marcha y la postura, la ralentización del movimiento físico (bradicinesia) y, en casos extremos, la pérdida de movimiento físico (acinesia). Los síntomas primarios son el resultado de la disminución de la  
30 estimulación de la corteza motora y otras áreas del cerebro por parte de los ganglios basales, normalmente causada por la insuficiente formación y acción de la dopamina, que se produce en las neuronas dopaminérgicas del cerebro. Las características motoras de la enfermedad de Parkinson son sólo un componente de un trastorno mucho más extendido que causa una abundancia de signos y síntomas no motores,

como la disfunción olfativa, el trastorno conductual del sueño REM (RBD), el estreñimiento, la depresión y los déficits cognitivos. Es importante destacar que muchos de estos signos y síntomas pueden preceder a los síntomas motores durante años o incluso una década o más.

- 5 El diagnóstico de la enfermedad de Parkinson puede realizarse siguiendo los Criterios de Diagnóstico Clínico de la Sociedad de Trastornos del Movimiento (MDS) para la enfermedad de Parkinson (EP) (Ronald B Postuma et al., *Mov Disord* 2015, Oct 30(12), 1591-601). Los Criterios de la Sociedad de Trastornos del Movimiento para la EP están pensados para su uso en la investigación clínica, pero también pueden utilizarse para
- 10 guiar el diagnóstico clínico. El punto de referencia para estos criterios es el diagnóstico clínico experto; los criterios tienen como objetivo sistematizar el proceso de diagnóstico, para que sea reproducible entre los centros y aplicable por los clínicos con menos experiencia en el diagnóstico de la EP. Aunque las anomalías motoras siguen siendo fundamentales, se ha dado un reconocimiento cada vez mayor a las
- 15 manifestaciones no motoras; éstas se incorporan tanto a los criterios actuales como, en particular, a los criterios separados para la EP prodrómica. Al igual que los criterios anteriores, los criterios de EP de la Sociedad de Trastornos del Movimiento mantienen el parkinsonismo motor como la característica principal de la enfermedad, definida como bradicinesia más temblor en reposo o rigidez. Una vez documentado el
- 20 parkinsonismo, la determinación de la EP como causa del parkinsonismo se basa en tres categorías de características diagnósticas: criterios de exclusión absoluta (que descartan la EP), banderas rojas (que deben ser completadas con criterios adicionales de apoyo para permitir el diagnóstico de EP) y criterios de apoyo (características positivas que aumentan la confianza en el diagnóstico de EP). Como sabrá la persona
- 25 experta, a medida que se amplía el conocimiento de la EP, los criterios de la Sociedad de Trastornos del Movimiento necesitarán una revisión continua para adaptarse a los nuevos avances.

- El término bradicinesia se define como la lentitud de los movimientos y la disminución de la amplitud o la velocidad (o progresivas vacilaciones/paradas) a medida que se
- 30 continúan los movimientos. La bradicinesia puede evaluarse mediante el golpeteo de los dedos (MDS-UPDRS (Escala Unificada de Calificación de la Enfermedad de Parkinson) 3.4), los movimientos de las manos (3.5), los movimientos de pronación/supinación (3.6), el golpeteo de los dedos de los pies (3.7) y el golpeteo de los pies (3.8). Aunque la bradicinesia también se produce en los dominios de la voz, la

cara y el movimiento axial/de garganta, la bradicinesia de las extremidades debe documentarse para establecer el diagnóstico de EP. La bradicinesia, tal y como se define aquí, combina en un solo término las definiciones de bradicinesia (lentitud) y acinesia/hipocinesia (disminución de la amplitud del movimiento); ambas suelen estar presentes en la exploración, aunque no siempre de forma simultánea (es decir, los pacientes no pueden moverse a una velocidad normal con una amplitud normal). En el parkinsonismo causado por la EP, se observa una disminución de la velocidad o de la amplitud a medida que se continúan los movimientos, una característica que a veces no se observa en el parkinsonismo causado por otras enfermedades.

- 5
- 10 Tal y como se indica en la MDS-UPDRS, la rigidez se juzga en función del "movimiento pasivo lento de las principales articulaciones con el paciente en posición relajada y el examinador manipulando las extremidades y el cuello". La rigidez se refiere a la resistencia "en tubo de plomo"; es decir, a la resistencia independiente de la velocidad al movimiento pasivo que no refleja únicamente la falta de relajación (es decir, distinta de la espasticidad o la paratonia).
- 15

Aunque el fenómeno de rueda dentada suele estar presente (y puede reflejar el temblor que se percibe incidentalmente al evaluar el tono), el "temblor de rueda dentada" aislado sin la rigidez "tubería de plomo" no cumple los requisitos mínimos de rigidez.

- 20 El temblor de reposo se refiere a un temblor de 4 a 6 Hz en la extremidad en reposo, que se suprime durante la iniciación del movimiento. El temblor de reposo puede evaluarse durante toda la entrevista y la exploración (MDS-UPDRS 3.17, 3.18). Los temblores cinéticos y posturales por sí solos (MDS-UPDRS 3.15 y 3.16) no cumplen los criterios de parkinsonismo. En la EP, también puede observarse un temblor parkinsoniano de reposo en la mano con una postura prolongada (es decir, un temblor "reemergente"); sin embargo, para cumplir los criterios, también debe observarse el temblor durante el reposo. En los pacientes con temblor postural o cinético asociado, hay que tener cuidado de que la extremidad esté totalmente relajada durante la exploración. La frecuencia de un verdadero temblor de reposo suele ser más lenta que el temblor de acción asociado.
- 25

- 30 Los modelos de enfermedad para la EP incluyen, pero no se limitan a, modelos basados en toxinas como los ratones MPTP, los monos MPTP, las ratas 6-OHDA, la Rotenona, el Paraquat/maneb y el MET/MDMA; modelos genéticos como los animales con genes alterados de  $\alpha$ -sinucleína, LRKK2, PINK1, PARKIN, DJ-1, ATP13A2, SHH, Nurrl, Engrailed 1, Pitx3, C-Rel-NFKB, MitoPark, Atg7 y/o VMAT2.

En una realización particular, el agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo es para su uso en la prevención y/o tratamiento del parkinsonismo o de los trastornos asociados al parkinsonismo. El término "trastornos asociados al parkinsonismo" incluye varias otras condiciones que tienen las características de la enfermedad de Parkinson y se denominan indistintamente "parkinsonismo", "enfermedad similar al Parkinson", "parkinsonismo secundario", "síndrome de Parkinson" o "Parkinson atípico".

El parkinsonismo es un término general que hace referencia a un grupo de trastornos neurológicos que causan problemas de movimiento similares a los que se observan en la enfermedad de Parkinson, como temblores, lentitud de movimientos y rigidez. Bajo la categoría de parkinsonismo hay una serie de trastornos. Al principio del proceso de la enfermedad, a menudo es difícil saber si una persona tiene la enfermedad de Parkinson idiopática (que significa "de origen desconocido") o un síndrome que la imita. Estos síndromes tienden a progresar más rápidamente que la enfermedad de Parkinson, se presentan con síntomas adicionales como caídas tempranas, demencia o alucinaciones, y no responden o responden sólo por poco tiempo a la terapia con levodopa. Las causas subyacentes de la enfermedad similar al Parkinson o del parkinsonismo son numerosas, y el diagnóstico puede ser complejo. Una amplia gama de etiologías puede dar lugar a un conjunto de síntomas similares, incluyendo algunas toxinas, unas pocas enfermedades metabólicas y un puñado de condiciones neurológicas no relacionadas con el Parkinson. Una causa común es el efecto secundario de los medicamentos, principalmente los antipsicóticos neurolepticos, especialmente las fenotiazinas (como la perfenazina y la clorpromazina), los tioxantenos (como el flupentixol y el zuclopentixol) y las butirofenonas (como el haloperidol (Haldol)), las piperazinas (como la ziprasidona) y, rara vez, los antidepresivos. Otras causas son, entre otras, la degeneración olivopontocerebelosa, la parálisis supranuclear progresiva, la degeneración corticobasal, la demencia temporofrontal; inducidas por fármacos como los antipsicóticos, la proclorperazina, la metoclopramida; la intoxicación por monóxido de carbono; los traumatismos craneales y el parkinsonismo de la enfermedad de Huntington. En algunos casos, las alfa-sinucleinopatías pueden dar lugar a una enfermedad parecida al Parkinson, al parkinsonismo secundario, al síndrome de Parkinson o al Parkinson atípico.

Los ejemplos de trastornos asociados al parkinsonismo incluyen, sin limitación, el parkinsonismo inducido por fármacos, la enfermedad de Parkinson de aparición temprana, la parálisis supranuclear, la atrofia multisistémica, la enfermedad de los cuerpos de Lewy o la demencia con cuerpos de Lewy, la esclerosis lateral primaria, la  
5 esclerosis múltiple, la degeneración corticobasal y el parkinsonismo vascular.

El parkinsonismo inducido por fármacos (DIP), tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a un trastorno del movimiento inducido por fármacos y causado por cualquier medicamento que interfiera en la transmisión de la dopamina. El DIP es una de las causas más comunes de parkinsonismo no degenerativo. El parkinsonismo  
10 inducido por fármacos suele afectar a ambos lados del cuerpo por igual, mientras que la EP es prácticamente siempre asimétrica, afectando a un lado del cuerpo más que al otro. Los fármacos prototípicos son los agentes bloqueadores de los receptores de la dopamina, concretamente los que bloquean el D2.

La "enfermedad de Parkinson de inicio joven" se refiere a un trastorno parkinsoniano raro y genético que se caracteriza por una edad de inicio entre los 21 y los 45 años, rigidez, calambres dolorosos seguidos de temblor, bradicinesia, distonía, molestias en la marcha y caídas, y otros síntomas no motores. En la mayoría de las formas de esta enfermedad también se observa una lenta progresión de la enfermedad y una  
15 respuesta más pronunciada a la terapia dopaminérgica.

El término "parálisis supranuclear (PSP)" o "parálisis supranuclear progresiva" se refiere a un trastorno cerebral poco común que afecta al movimiento, al control de la marcha y el equilibrio, al habla, a la deglución, a la visión, al estado de ánimo y al comportamiento, y al pensamiento. La enfermedad es el resultado de un daño en las células nerviosas del cerebro. El nombre largo del trastorno indica que la enfermedad  
20 empeora (progresiva) y causa debilidad (parálisis) al dañar ciertas partes del cerebro por encima de los grupos de células nerviosas llamados núcleos (supranucleares). Estos núcleos controlan especialmente los movimientos oculares. Uno de los signos clásicos de la enfermedad es la incapacidad de apuntar y mover los ojos correctamente, que los individuos pueden experimentar como visión borrosa. Tanto la  
25 PSP como la enfermedad de Parkinson provocan rigidez, dificultades de movimiento y torpeza, pero la PSP es más rápidamente progresiva que la enfermedad de Parkinson. Las personas con PSP suelen estar excepcionalmente rectas u ocasionalmente incluso inclinan la cabeza hacia atrás (y tienden a caerse hacia atrás). Esto se denomina "rigidez axial". Los que padecen la enfermedad de Parkinson suelen  
30

inclinarse hacia delante. Los problemas del habla y la deglución son mucho más comunes y graves en la PSP que en la enfermedad de Parkinson, y tienden a aparecer antes en el curso de la enfermedad. Los movimientos oculares son anormales en la PSP, pero casi normales en la enfermedad de Parkinson. Ambas enfermedades

5 comparten otras características: comienzo en adultos mayores, bradicinesia (lentitud de movimientos) y rigidez muscular. El temblor, muy común en los individuos con enfermedad de Parkinson, es raro en la PSP. Aunque los individuos con la enfermedad de Parkinson se benefician notablemente del fármaco levodopa, las personas con PSP responden mínimamente y sólo brevemente a este fármaco. Además, las personas

10 con PSP muestran una acumulación de la proteína tau en las células cerebrales afectadas, mientras que las personas con enfermedad de Parkinson muestran una acumulación de una proteína diferente, llamada alfa-sinucleína. Los síntomas de la PSP están causados por un deterioro gradual de las células cerebrales en unas pocas áreas específicas del cerebro, principalmente en la región llamada tronco cerebral. Una

15 de estas zonas, la sustancia negra, también se ve afectada en la enfermedad de Parkinson, y el daño en esta región del cerebro explica en parte los síntomas motores que tienen en común la PSP y el Parkinson. El sello distintivo de la enfermedad es la acumulación de depósitos anormales de la proteína tau en las células nerviosas del cerebro, de modo que éstas no funcionan correctamente y mueren.

20 Tal y como se utiliza en este documento, la "atrofia multisistémica (AMS)" se refiere a un trastorno neurodegenerativo progresivo caracterizado por una combinación de síntomas que afectan tanto al sistema nervioso autónomo (la parte del sistema nervioso que controla las acciones involuntarias, como la presión arterial o la digestión) como al movimiento. Los síntomas reflejan la pérdida progresiva de la función y la

25 muerte de diferentes tipos de células nerviosas en el cerebro y la médula espinal. Los síntomas de insuficiencia autonómica que pueden observarse en la AMS incluyen desmayos y problemas de frecuencia cardíaca, disfunción eréctil y control de la vejiga. Las alteraciones motoras (pérdida o limitación del control muscular o del movimiento, o limitación de la movilidad) pueden incluir temblores, rigidez y/o pérdida de la

30 coordinación muscular, así como dificultades en el habla y la marcha (la forma en que una persona camina). Algunas de estas características son similares a las que se observan en la enfermedad de Parkinson, y al principio del curso de la enfermedad a menudo puede ser difícil distinguir estos trastornos. Un rasgo distintivo de la AMS es la acumulación de la proteína alfa-sinucleína en la glía, las células que sostienen las

35 células nerviosas en el cerebro. Estos depósitos de alfa-sinucleína se producen sobre

todo en la oligodendroglía, un tipo de célula que fabrica la mielina (un revestimiento de las células nerviosas que les permite conducir rápidamente las señales eléctricas). Esta proteína también se acumula en la enfermedad de Parkinson, pero en las células nerviosas. Dado que ambas presentan una acumulación de alfa-sinucleína en las células, la AMS y la enfermedad de Parkinson se denominan a veces sinucleinopatías.

La "enfermedad de los cuerpos de Lewy" o "demencia con cuerpos de Lewy (DCL)" es uno de los tipos más comunes de demencia progresiva. Los rasgos principales de la DCL son el deterioro cognitivo progresivo, las "fluctuaciones" en el estado de alerta y la atención, las alucinaciones visuales y los síntomas motores parkinsonianos, como la lentitud de movimientos, la dificultad para caminar o la rigidez. Las personas también pueden sufrir depresión. Los síntomas de la DCL están causados por la acumulación de cuerpos de Lewy (acumulaciones de proteína alfa-sinucleína) en el interior de los núcleos de las neuronas de las zonas del cerebro que controlan determinados aspectos de la memoria y el control motor. Los investigadores no saben exactamente por qué la alfa-sinucleína se acumula en los cuerpos de Lewy ni cómo los cuerpos de Lewy causan los síntomas de la DCL, pero sí saben que la acumulación de alfa-sinucleína también está relacionada con la enfermedad de Parkinson, la atrofia multisistémica y varios otros trastornos, que se denominan "sinucleinopatías". La similitud de los síntomas entre la DCL y la enfermedad de Parkinson, y entre la DCL y la enfermedad de Alzheimer, puede dificultar a menudo el diagnóstico definitivo por parte del médico. Además, los cuerpos de Lewy suelen encontrarse también en los cerebros de los enfermos de Parkinson y Alzheimer. Estos hallazgos sugieren que, o bien la DCL está relacionada con estas otras causas de demencia, o bien una persona puede padecer ambas enfermedades al mismo tiempo. La DCL suele aparecer de forma esporádica, en personas sin antecedentes familiares conocidos de la enfermedad. Sin embargo, ocasionalmente se han descrito casos familiares poco frecuentes.

El término "esclerosis lateral primaria (ELP)" se refiere a una rara enfermedad neuromuscular con debilidad lentamente progresiva en el movimiento muscular voluntario. La ELP pertenece a un grupo de trastornos conocidos como enfermedades de las neuronas motoras. La ELP afecta a las neuronas motoras superiores (también llamadas neuronas corticoespinales) de los brazos, las piernas y la cara. Se produce cuando las células nerviosas de las regiones motoras de la corteza cerebral (la fina capa de células que recubre el cerebro y que es responsable de las funciones mentales

- de nivel superior) degeneran gradualmente, provocando que los movimientos sean lentos y con esfuerzo. El trastorno suele afectar primero a las piernas, seguido del cuerpo, el tronco, los brazos y las manos y, por último, los músculos bulbares (músculos que controlan el habla, la deglución y la masticación). Los síntomas incluyen
- 5 debilidad, rigidez y espasticidad muscular, torpeza, lentitud de movimientos y problemas de equilibrio y habla. El ELP es más frecuente en los hombres que en las mujeres, con un inicio gradual y variado que suele producirse entre los 40 y los 60 años. El ELP progresa gradualmente a lo largo de varios años, o incluso décadas. Los científicos no creen que el ELP tenga una simple causa hereditaria. El diagnóstico del
- 10 ELP requiere pruebas exhaustivas para excluir otras enfermedades. Cuando comienzan los síntomas, el ELP puede confundirse con la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) o la paraplejia espástica. La mayoría de los neurólogos siguen el curso clínico de un individuo afectado durante al menos 3 o 4 años antes de hacer un diagnóstico de ELP.
- 15 El término "esclerosis múltiple (EM)" hace referencia a la enfermedad neurológica discapacitante más común entre los adultos jóvenes, cuyos síntomas suelen aparecer entre los 20 y los 40 años. En la EM, las células del sistema inmunitario que normalmente nos protegen de los virus, las bacterias y las células enfermas atacan por error la mielina del sistema nervioso central (cerebro, nervios ópticos y médula
- 20 espinal), una sustancia que constituye la vaina protectora (llamada vaina de mielina) que recubre las fibras nerviosas (axones). La EM es una enfermedad crónica que afecta a las personas de forma diferente. La EM ataca a los axones del sistema nervioso central protegidos por la mielina, que suelen llamarse materia blanca. La EM también daña los cuerpos de las células nerviosas, que se encuentran en la materia
- 25 gris del cerebro, así como los propios axones del cerebro, la médula espinal y los nervios ópticos que transmiten la información visual del ojo al cerebro. A medida que la enfermedad avanza, la capa más externa del cerebro, llamada corteza cerebral, se reduce (lo que se conoce como atrofia cortical). El término esclerosis múltiple se refiere a las áreas distintivas de tejido cicatrizado (esclerosis, también llamadas placas o
- 30 lesiones) que resultan del ataque a la mielina por parte del sistema inmunitario. Estas placas son visibles mediante resonancia magnética en la materia blanca y/o gris de las personas con EM. Las placas pueden ser tan pequeñas como la cabeza de un alfiler o tan grandes como una pelota de golf. Durante una exacerbación de la EM, la mayor parte de la mielina, y en menor medida los axones dentro de la zona afectada, es
- 35 dañada o destruida por diferentes tipos de células inmunitarias (también conocidas

como inflamación). Los síntomas de la EM dependen de la gravedad de la reacción inflamatoria, así como de la localización y la extensión de las placas, que aparecen principalmente en el tronco cerebral, el cerebelo (que interviene en el equilibrio y la coordinación del movimiento, entre otras funciones), la médula espinal, los nervios  
5 ópticos y la materia blanca que rodea los ventrículos cerebrales (espacios llenos de líquido).

Tal y como se utiliza aquí, la "degeneración corticobasal" se refiere a un trastorno neurológico progresivo caracterizado por la pérdida de células nerviosas y la atrofia (encogimiento) de múltiples áreas del cerebro, incluyendo la corteza cerebral y los  
10 ganglios basales. La degeneración corticobasal progresa gradualmente. Los síntomas iniciales, que suelen comenzar a los 60 años o alrededor de esa edad, pueden aparecer primero en un lado del cuerpo (unilateral), pero acaban afectando a ambos lados a medida que la enfermedad progresa. Los síntomas son similares a los de la enfermedad de Parkinson, como la mala coordinación, la acinesia (ausencia de  
15 movimientos), la rigidez (resistencia al movimiento impuesto), el desequilibrio (alteración del equilibrio) y la distonía de las extremidades (posturas musculares anormales). También pueden aparecer otros síntomas, como alteraciones cognitivas y visuales-espaciales, apraxia (pérdida de la capacidad de realizar movimientos familiares y con propósito), habla vacilante y entrecortada, mioclonías (sacudidas  
20 musculares) y disfagia (dificultad para tragar). Una persona con degeneración corticobasal acaba siendo incapaz de caminar.

El término "parkinsonismo vascular (PV)", también conocido como "multiinfarto", hace referencia a un trastorno del movimiento hipocinético caracterizado por acinesia/bradicinesia, temblores en reposo y rigidez extrapiramidal. El "parkinsonismo  
25 vascular (PV)" es una forma de parkinsonismo atípico, en el que los rasgos parkinsonianos son de origen vascular, en contraste con la enfermedad de Parkinson (EP) típica, de etiología neurodegenerativa. Representa entre el 4,4% y el 12% de todos los casos de parkinsonismo. Por lo general, los síntomas parkinsonianos (movimientos lentos, temblores, dificultad para caminar y mantener el equilibrio, rigidez  
30 y agarrotamiento) se producen por uno o más pequeños accidentes cerebrovasculares, en lugar de por la pérdida gradual de células nerviosas, como se observa en la enfermedad de Parkinson neurodegenerativa más típica.

Alternativamente, la invención se refiere a un método para tratar y/o prevenir la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo, cuyo método

comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 El término "cantidad terapéuticamente eficaz" se definirá más adelante al referirse a las composiciones farmacéuticas.

Alternativamente, la invención se refiere al uso de un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

En una realización preferida, el agonista específico del receptor IGF-2 se selecciona del grupo que consiste en IGF-2, Leu[27]IGF-2, M6PRBP1, (Arg6) IGF-2 y Des [1-6] Factor de Crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2).

15 Tal como se utiliza en el presente documento, el "factor de crecimiento similar a la insulina 2", también conocido como "IGF-2", "IGF-II" o "somatomedina", se refiere al factor de crecimiento similar a la insulina-2 de cualquier especie, incluyendo bovina, ovina, porcina, equina y humana, preferentemente humana, y, si se refiere a la administración exógena, de cualquier fuente, ya sea natural, sintética o recombinante. Puede prepararse por el método descrito en, por ejemplo, el documento EP 128,733.

20 En una realización preferida, el IGF-2 es IGF-2 humano. El IGF-2 humano maduro, un péptido de 7,5 kDa que contiene 67 aminoácidos, se sintetiza originalmente como un péptido pro-IGF-2 biológicamente inactivo (156 aminoácidos), que posteriormente se somete a una escisión endoproteolítica regulada hasta alcanzar la forma madura. Además del IGF-2 maduro, se han identificado dos variantes "grandes", el IGF-2 (1-87) y el IGF-2 (1-104), en suero humano y bovino. Tienen un tamaño de 11-17 kDa, 25 contienen 87 o 104 aminoácidos, respectivamente, y difieren en la glicosilación.

En una realización particular, el IGF-2 es la proteína codificada por el gen humano que se muestra en la base de datos de Ensembl con el número de acceso ENSG00000167244 (Ensembl versión 102, noviembre de 2020). En otra realización particular, el IGF-2 es la proteína de SEQ ID NO: 1, que se muestra en la base de 30 datos UniProt con el número de acceso P01344 (versión de entrada 246, 10 de febrero de 2021, versión de secuencia 1, 21 de julio de 1986). En otra realización particular, el IGF-2 es la proteína de SEQ ID NO: 2, que corresponde a la proteína mostrada en la

base de datos UniProt con el número de acceso P01344 (versión de entrada 246, 10 de febrero de 2021, versión de secuencia 1, 21 de julio de 1986) sin los 24 primeros aminoácidos del péptido señal. En una realización preferida, el IGF-2 es la proteína de SEQ ID NO: 3, que corresponde a la proteína IGF-2 madura de 67 aminoácidos. En otra realización, el IGF-2 es la proteína de 87 aminoácidos de la SEQ ID NO: 4 o la proteína de 104 aminoácidos de la SEQ ID NO: 5.

En el presente documento, el término "Leu[27]IGF-2" o "Leu27IGF-2" se refiere a un análogo del IGF-2 humano que tiene una sustitución de Leu (L) en lugar de Tyr (Y) en la posición 27 (SEQ ID NO: 7) de la secuencia de aminoácidos del IGF-2 e interactúa selectivamente con el IGF-2R.

Tal y como se utiliza en el presente documento, el término "proteína de unión al receptor de manosa-6-fosfato 1" o "M6PRBP1" se refiere a una proteína que interactúa con los dominios citoplásmicos de los MPR independientes y dependientes de cationes, y es necesaria para el transporte del endosoma al Golgi. Esta proteína también se une directamente a la GTPasa RAB9 (RAB9A), un miembro de la familia del oncogén RAS. En una realización particular, la M6PRBP1 es la proteína codificada por el gen humano que aparece en la base de datos Ensembl con el número de acceso ENSG00000105355. Se han encontrado múltiples variantes de transcripción que codifican diferentes isoformas para este gen.

El término "(Arg6) IGF-2 o" [Arg6] Factor de Crecimiento similar a la insulina-2 [R6]IGF-2" se refiere a un análogo del IGF-2 humano, que tiene una sustitución de Arg en lugar de Glu en la posición 6 de la secuencia de aminoácidos del IGF-2 (SEQ ID NO: 8).

El término Des [1-6] Factor de Crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) se refiere a un análogo de 61 aminoácidos del IGF-2 humano que carece del hexapéptido N-terminal Ala-Tyr-Arg-Pro-Ser-Glu (SEQ ID NO: 6)

En una realización preferida, el agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la invención es IGF2 o una variante funcionalmente equivalente del mismo.

"Variante funcionalmente equivalente" se entiende como todas aquellas proteínas IGF-2 derivadas del IGF-2, por modificación, sustitución, inserción y/o supresión de uno o más aminoácidos, siempre que la función se mantenga sustancialmente.

La actividad de una variante funcionalmente equivalente puede evaluarse midiendo la activación del receptor del IGF-2 provocada por dichas variantes. Los ensayos útiles

para determinar la actividad de la variante incluyen, sin limitación, los basados en la actividad biológica desencadenada por la activación del receptor del IGF-2, como la medición de la proliferación de las células de ovario de hámster chino (CHO) ( $EC_{50} \leq 150$  ng/ml) o la estimulación de la síntesis de proteínas en mioblastos de rata, (Mamounas M et al., 1989, PNAS, vol. 86, pp 9294-9298 y Bach LA et al., Endocrinology. 1995 Nov;136(11):5061-9), en combinación con ensayos adecuados para el cribado de agonistas específicos del IGF-2, como los ensayos de unión y la inmunohistoquímica, como se ha mencionado anteriormente.

Preferentemente, las "variantes" de los agonistas específicos del IGF-2R son (i) aquellas en las que uno o más residuos de aminoácidos son sustituidos por un residuo de aminoácido conservado o no conservado (preferentemente un residuo de aminoácido conservado) y dicho aminoácido sustituido puede estar codificado o no por el código genético, (ii) aquellos en los que hay uno o más residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, residuos modificados por unión de sustituyentes, (iii) los resultantes del procesamiento alternativo de un ARNm similar, (iv) los fragmentos de agonistas específicos del IGF-2R y/o (v) los resultantes de la fusión del agonista específico del IGF-2R o de las variantes definidas anteriormente en (i) a (iii) con otro polipéptido, como una secuencia líder secretora, una secuencia que se utiliza para la purificación (por ejemplo, etiqueta His), para la detección (por ejemplo, etiqueta epitópica Sv5) o para la llegar a una célula diana específica. Los fragmentos incluyen polipéptidos generados mediante corte proteolítico (incluida la proteólisis multisitio) de una secuencia original. La variante funcionalmente equivalente puede ser el resultado de una modificación postraducciona l o química. Tales variantes serán evidentes para los expertos en la materia.

Las variantes de las secuencias pueden ser tanto naturales como artificiales. La expresión "variante natural" se refiere a todas aquellas variantes del receptor IGF-2 específico humano endógeno que aparecen de forma natural en otras especies, es decir, los ortólogos del IGF-2.

Una variante funcionalmente equivalente puede derivarse de los agonistas específicos del IGF-2R comprendiendo la adición, sustitución o modificación de uno o más residuos de aminoácidos. A modo de ilustración, las variantes funcionalmente equivalentes pueden incluir la secuencia de aminoácidos del agonista específico del IGF-2R que comprende la adición de 1 aminoácido, 2 aminoácidos, 3 aminoácidos, 4 aminoácidos, 5 aminoácidos, 10 aminoácidos, 15 aminoácidos, 20 aminoácidos, 25

aminoácidos, 30 aminoácidos, 35 aminoácidos, 40 aminoácidos, 45 aminoácidos, 50 aminoácidos, 60 aminoácidos, 70 aminoácidos, 80 aminoácidos, 90 aminoácidos, 100 aminoácidos, 150 aminoácidos, 200 aminoácidos, al menos 500 aminoácidos, al menos 1000 aminoácidos o más en el aminoterminal de la secuencia de aminoácidos de los agonistas específicos del IGF-2R; y/o que comprende la adición de 1 aminoácido, 2 aminoácidos, 3 aminoácidos, 4 aminoácidos, 5 aminoácidos, 10 aminoácidos, 11 aminoácidos, 12 aminoácidos, 13 aminoácidos, 14 aminoácidos, 15 aminoácidos aminoácidos, 20 aminoácidos, 25 aminoácidos, 30 aminoácidos, 35 aminoácidos, 40 aminoácidos, 45 aminoácidos, 50 aminoácidos, 60 aminoácidos, 70 aminoácidos, 80 aminoácidos, 90 aminoácidos, 100 aminoácidos, 150 aminoácidos, 200 aminoácidos, al menos 500 aminoácidos, al menos 1000 aminoácidos o más en el extremo carboxi del agonista específico del IGF-2R. En una realización particular, la variante funcional equivalente del IGF-2 tiene al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98% o al menos un 99% de identidad de secuencia con IGF-2. En una realización más particular, la variante funcionalmente equivalente del IGF-2 tiene al menos un 70%, al menos un 75%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 91%, al menos un 92%, al menos un 93%, al menos un 94%, al menos un 95%, al menos un 96%, al menos un 97%, al menos un 98% o al menos un 99% de identidad de secuencia con la proteína identificada por el número de acceso UniProt P01344.

Las variantes funcionalmente equivalentes de la invención son aquellas que mantienen al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 91%, al menos el 92%, al menos el 93%, al menos el 94%, al menos el 95%, al menos el 96%, al menos el 97%, al menos el 98%, al menos el 99%, o al menos el 100% de la actividad de la proteína IGF-2, como se ha definido anteriormente.

Los términos "identidad", "idéntico" o "porcentaje de identidad" en el contexto de dos o más secuencias de aminoácidos, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de residuos de aminoácidos que son iguales, cuando se comparan y alinean (introduciendo huecos, si es necesario) para obtener la máxima correspondencia, sin considerar ninguna sustitución conservadora de aminoácidos como parte de la identidad de la secuencia.

El porcentaje de identidad puede medirse utilizando software o algoritmos de comparación de secuencias o mediante inspección visual. Se conocen varios algoritmos y programas informáticos que pueden utilizarse para obtener alineaciones de secuencias de aminoácidos o nucleótidos. Un ejemplo no limitativo de un algoritmo de alineación de secuencias es el descrito en Karlin et al., 1990, Proc. Natl. Acad. Sci., 87:2264-8, modificado en Karlin et al., 1993, Proc. Acad. Sci., 90:5873-7, e incorporado en los programas NBLAST y XBLAST (Altschul et al., 1991, Nucleic Acids Res., 25:3389-402). En ciertas realizaciones, se puede utilizar Gapped BLAST como se describe en Altschul et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-402. BLAST-2, WU-BLAST-2 (Altschul et al., 1996, Methods in Enzymology, 266:460-80), ALIGN, ALIGN-2 (Genentech, South San Francisco, California) o Megalign (DNASTAR) son otros programas informáticos disponibles públicamente que pueden utilizarse para alinear secuencias. En ciertas realizaciones, el porcentaje de identidad entre dos secuencias de nucleótidos se determina utilizando el programa GAP del software GCG (por ejemplo, utilizando una matriz CMP NWSgapdna. y un peso de separación de 40, 50, 60, 70 o 90 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5 o 6). En ciertas realizaciones alternativas, el programa GAP del paquete de software GCG, que incorpora el algoritmo de Needleman y Wunsch (J. Mol. Biol. 48:444-53 (1970)) puede utilizarse para determinar el porcentaje de identidad entre dos secuencias de aminoácidos (por ejemplo, utilizando una matriz Blossum 62 o una matriz PAM250, y un peso de separación de 16, 14, 12, 10, 8, 6, o 4 y un peso de longitud de 1, 2, 3, 4, 5). Alternativamente, en ciertas realizaciones, el porcentaje de identidad entre las secuencias de nucleótidos o aminoácidos se determina utilizando el algoritmo de Myers y Miller (CABIOS, 4:11-7 (1989)). Por ejemplo, el porcentaje de identidad puede determinarse utilizando el programa ALIGN (versión 2.0) y utilizando una tabla PAM120 con residuos, una penalización de longitud de separación de 12 y una penalización de separación de 4. Los parámetros apropiados para un alineamiento máximo mediante un software de alineamiento particular pueden ser determinados por un experto en la materia. En ciertas realizaciones, se utilizan los parámetros por defecto del software de alineación. En ciertas realizaciones, el porcentaje de identidad "X" de una primera secuencia de aminoácidos con respecto a una segunda secuencia de aminoácidos se calcula como  $100 \times (Y/Z)$ , donde Y es el número de residuos de aminoácidos calificados como idénticos coinciden en el alineamiento de la primera y la segunda secuencia (tal y como se alinean mediante inspección visual o un programa de alineamiento de secuencias concreto) y Z es el número total de residuos de la

segunda secuencia. Si la segunda secuencia es más larga que la primera, el porcentaje de identidad puede determinarse solo en la región de solapamiento entre dichas secuencias primera y segunda. En este caso, se puede utilizar la misma fórmula anterior, pero utilizando como valor Z la longitud de la región en la que se solapan la primera y la segunda secuencia, teniendo dicha región una longitud sustancialmente igual a la de la primera secuencia.

En una realización particular, la identidad de la secuencia se determina a lo largo de toda la longitud del IGF-2, o a lo largo de toda la longitud de la variante, o ambos.

El término "sustitución conservadora" o "residuo de aminoácido conservado", tal y como se utiliza aquí, se refiere a la sustitución de un aminoácido presente en la secuencia nativa por un aminoácido de origen natural o no natural o por un peptidomimético que tenga propiedades estéricas similares. Cuando la cadena lateral del aminoácido nativo que se va a sustituir es polar o hidrofóbica, la sustitución conservadora debe hacerse con un aminoácido natural, un aminoácido no natural o con una fracción peptidomimética que también sea polar o hidrofóbica (además de tener las mismas propiedades estéricas que la cadena lateral del aminoácido sustituido).

Como los aminoácidos naturales se agrupan típicamente según sus propiedades, las sustituciones conservadoras por aminoácidos naturales pueden determinarse fácilmente teniendo en cuenta el hecho de que, de acuerdo con la invención, la sustitución de aminoácidos cargados por aminoácidos no cargados estéricamente similares se consideran sustituciones conservadoras.

Para producir sustituciones conservadoras por aminoácidos no naturales también es posible utilizar análogos de aminoácidos (aminoácidos sintéticos) bien conocidos en la técnica.

Cuando se trata de sustituciones conservadoras, el aminoácido sustituyente debe tener el mismo o un grupo funcional similar en la cadena lateral que el aminoácido original.

La frase "sustituciones no conservadoras" o "residuo de aminoácido no conservado", tal y como se utiliza en el presente documento, se refiere a la sustitución del aminoácido tal y como está presente en la secuencia original por otro aminoácido de origen natural o no natural, con propiedades electroquímicas y/o estéricas diferentes. Así, la cadena lateral del aminoácido sustituto puede ser significativamente mayor (o

menor) que la cadena lateral del aminoácido nativo sustituido y/o puede tener grupos funcionales con propiedades electrónicas significativamente diferentes a las del aminoácido sustituido. Ejemplos de sustituciones no conservadoras de este tipo incluyen la sustitución de fenilalanina o ciclohexilmetilglicina por alanina, isoleucina por glicina, o  $-\text{NH}-\text{CH}[(\text{-CH}_2)_5\text{-COOH}]-\text{CO}-$  por ácido aspártico. Las sustituciones no conservadoras que entran en el ámbito de la presente invención son aquellas que siguen constituyendo un péptido con propiedades anti proliferativas.

Los agonistas específicos del IGF-2R de la presente invención también pueden comprender grupos no aminoácidos, como por ejemplo, grupos hidrofóbicos (varios hidrocarburos lineales, ramificados, cíclicos, policíclicos o heterocíclicos y derivados de hidrocarburos) unidos a ellos; varios grupos protectores, que se unen a los terminales del compuesto para disminuir la degradación. Los grupos funcionales protectores adecuados se describen en Green y Wuts, "Protecting Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, capítulos 5 y 7, 1991.

Los grupos químicos (no aminoácidos) pueden incluirse para mejorar diversas propiedades fisiológicas, como la disminución de la degradación o el aclaramiento; la disminución de la repulsión por diversas bombas celulares, la mejora de las actividades inmunogénicas, la mejora de diversos modos de administración (como la unión de diversas secuencias que permiten la penetración a través de diversas barreras, a través del intestino, etc.); el aumento de la especificidad, el aumento de la afinidad, el aumento de la estabilidad, la biodisponibilidad, la solubilidad, la disminución de la toxicidad y similares.

Las variantes de la invención pueden abarcar péptidos nativos (ya sean productos de degradación, péptidos sintetizados sintéticamente o péptidos recombinantes), análogos, derivados, sales, isómeros retro- inversos, mímicos, miméticos o peptidomiméticos (típicamente péptidos sintetizados sintéticamente), así como peptoides y semipeptoides.

Los términos "análogo", "derivado" y "mimético" incluyen moléculas que imitan la estructura química de una estructura peptídica y conservan las propiedades funcionales de dicha estructura. Los enfoques para diseñar análogos peptídicos, derivados y miméticos son conocidos en la técnica. Por ejemplo, véase Farmer, P. S. en Dmg Design (E. J. Ariens, ed.) Academic Press, Nueva York, 1980, vol. 10, pp. 119-143; Ball, J. B. y Alewood, P. F. (1990) J. Mol. Recognition 3:55. Morgan, B. A. y Gainor, J. A. (1989) Ann. Rep. Med. Chem. 24:243; y Freidinger, R. M. (1989) Trends

Pharmacol. Sci. 10:270. Véase también Sawyer, T. K. (1995) Peptidomimetic Design and Chemical Approaches to Peptide Metabolism en Taylor, M. D. y Amidon, G. L. (eds.) Peptide-Based Drug Design: Controlling Transport and Metabolism, Capítulo 17; Smith, A. B. 3rd, et al. (1995) J. Am. Chem. Soc. 117: 11113-11123; Smith, A. B. 3rd, et al. (1994) J. Am. Chem. Soc. 116:9947-9962; y Hirschman, R., et al. (1993) J. Am. Chem. Soc. 115: 12550-12568.

Las variantes de la invención también pueden incluir derivados. Un "derivado" (por ejemplo, un péptido o un aminoácido) incluye formas en las que uno o más grupos de reacción del compuesto se han derivado con un grupo sustituyente. Entre los ejemplos de derivados se incluyen los péptidos en los que se ha derivado una cadena lateral de aminoácidos, la columna vertebral del péptido o el amino o carboxi-terminal (por ejemplo, compuestos peptídicos con enlaces amídicos metilados). Un "análogo" de un compuesto X incluye compuestos que conservan estructuras químicas necesarias para la actividad funcional, pero que también contienen ciertas estructuras químicas que difieren.

Un "mimético" de un compuesto incluye compuestos en los que las estructuras químicas del compuesto necesarias para la actividad funcional han sido sustituidas por otras estructuras químicas que imitan la conformación del compuesto. Entre los ejemplos de peptidomiméticos se encuentran los compuestos peptídicos en los que la columna vertebral del péptido está sustituida por una o más moléculas de benzodiazepina (véase, por ejemplo, James, G. L. et al. (1993) Science 260: 1937-1942) u oligómeros que imitan la estructura secundaria del péptido mediante el uso de isómeros de enlaces amídicos y/o la modificación de la columna vertebral del péptido nativo, incluyendo la extensión de la cadena o la incorporación de heteroátomos; ejemplos de los cuales incluyen azapéptidos, oligocarbamatos, oligoureas, beta-péptidos, gamma-péptidos, oligo(fenileno-etinileno)s, sulfonopéptidos vinílicos, glicinas poli-N-sustituidas (peptoides) y similares. Los métodos para preparar compuestos peptidomiméticos son bien conocidos en la técnica y se especifican, por ejemplo, en Quantitative Drug Design, C.A. Ramsden Gd., Capítulo 17.2, F. Choplin Pergamon Press (1992).

En otra realización, el agonista específico del receptor IGF-2 para su uso según la invención está comprendido en una composición farmacéutica con un portador farmacéuticamente aceptable.

El término "composición farmacéutica", tal como se utiliza aquí, se refiere a una

composición que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de los agentes según la presente invención y al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas que pueden utilizarse en los usos médicos de la invención pueden prepararse, por ejemplo, como inyectables, como soluciones  
5 líquidas, suspensiones y emulsiones.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz", tal y como se utiliza aquí en relación con el agonista específico del IGF-2R para los usos médicos de la invención, se refiere a la cantidad suficiente del agonista específico del IGF-2R para proporcionar el efecto deseado, es decir, para lograr una prevención, curación, retraso, reducción de la  
10 gravedad o mejora apreciables de uno o más síntomas derivados de una enfermedad, y generalmente estará determinado, entre otras causas, por las características del propio agente y el efecto terapéutico que se desea conseguir. También dependerá del sujeto a tratar, de la gravedad de la enfermedad que padezca dicho sujeto, de la forma farmacéutica elegida, etc. Por esta razón, las dosis mencionadas en esta invención  
15 deben considerarse sólo como guías para el experto en la materia, que deberá ajustar las dosis en función de las variables mencionadas. En una realización, la cantidad efectiva produce la mejora de uno o más síntomas de la enfermedad que se está tratando.

Aunque las necesidades individuales varían, la determinación de los rangos óptimos  
20 para las cantidades efectivas del compuesto de la invención pertenece a la experiencia común de los expertos en la materia. En general, la dosis necesaria para proporcionar una cantidad eficaz de dicho compuesto, que puede ser ajustada por un experto en la materia, variará en función de la edad, la salud, el estado físico, el sexo, la dieta, el peso, el grado de alteración del receptor, la frecuencia del tratamiento y la naturaleza  
25 y el alcance del deterioro o la enfermedad, la condición médica del paciente, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas como la actividad, la eficacia, el perfil farmacocinético y toxicológico del compuesto particular utilizado, si se utiliza un sistema de administración de fármacos, y si el compuesto se administra como parte de una combinación de fármacos.

30 Los expertos en la materia están familiarizados con los principios y procedimientos discutidos en fuentes ampliamente conocidas y disponibles como Remington's Pharmaceutical Science (17th Ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985) y Goodman and Gilman's. Los términos "excipiente farmacéuticamente aceptable" o "portador farmacéuticamente aceptable", se refieren a cualquier compuesto o

combinación de compuestos que es esencialmente no tóxico para el sujeto en la dosis y concentración empleada, y es compatible con los otros componentes de una composición farmacéutica. Por lo tanto, un excipiente es una sustancia inactiva formulada junto al ingrediente activo de una composición farmacéutica, con el propósito de dar tamaño y forma a las composiciones que contienen dichos ingredientes activos. El dar forma y tamaño, permite una dispensación conveniente y precisa de una sustancia farmacéutica cuando se produce una forma de dosificación. Los excipientes también pueden servir para varios propósitos de mejora terapéutica, como facilitar la absorción o solubilidad del compuesto (fármaco), u otras consideraciones farmacocinéticas. Los excipientes también pueden ser útiles en el proceso de fabricación, para ayudar a la manipulación del principio activo en cuestión, por ejemplo, facilitando la fluidez del polvo o las propiedades antiadherentes, además de ayudar a la estabilidad in vitro, como la prevención de la desnaturalización durante la vida útil prevista. La selección de los excipientes adecuados depende de la vía de administración y de la forma farmacéutica, así como del principio activo y de otros factores. Un excipiente puede ser un relleno sólido, semisólido o líquido no tóxico, un diluyente, un material de encapsulación o un auxiliar de formulación de cualquier tipo convencional. Entre los ejemplos ilustrativos, no limitativos, de excipientes o portadores se encuentran el agua, las soluciones salinas, el alcohol, la dextrosa, los aceites vegetales, los polietilenglicoles, la gelatina, la lactosa, la amilosa, el estearato de magnesio, el talco, los tensioactivos, el ácido silícico, la parafina viscosa, el aceite de perfume, los monoglicéridos y diglicéridos de ácidos grasos, los ésteres de ácidos grasos petroetales, la hidroximetilcelulosa, la polivinilpirrolidona y otros similares.

En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R para uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para uso en la presente invención es para administración parenteral. Así, dicho agonista específico del IGF-2R para uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R adecuado para inyección parenteral, incluyen soluciones acuosas o no acuosas fisiológicamente aceptables, dispersiones, suspensiones o emulsiones, o pueden comprender polvos estériles para su reconstitución en soluciones o dispersiones inyectables estériles. Entre los ejemplos de excipientes o portadores acuosos o no acuosos, diluyentes, disolventes o vehículos adecuados se incluyen el agua, el etanol, los polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol y similares), las mezclas adecuadas de los mismos, los triglicéridos, incluidos los aceites vegetales como el aceite de oliva, o los ésteres orgánicos inyectables como

el oleato de etilo. En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R para uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R es para uso en la presente invención para administración intravenosa, intramuscular o subcutánea. Típicamente, las composiciones farmacéuticas para la administración intravenosa, intramuscular o subcutánea son soluciones en tampón acuoso isotónico estéril. Si es necesario, el agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso en la presente invención también incluye un anestésico local para mejorar cualquier dolor en el lugar de la inyección. Por lo general, los ingredientes se suministran por separado o mezclados en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como polvo seco liofilizado o concentrado sin agua en un recipiente hermético como una ampolla o una bolsita que indica la cantidad de ingrediente activo. Cuando la composición farmacéutica se administre por infusión, puede dispensarse con un frasco de infusión que contenga agua o solución salina estéril de calidad farmacéutica. Cuando la composición farmacéutica se administre por inyección, puede proporcionarse una ampolla de agua estéril para inyección o solución salina para que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

Las formas de dosificación sólidas para la administración oral incluyen cápsulas convencionales, cápsulas de liberación sostenida, comprimidos convencionales, comprimidos de liberación sostenida, comprimidos masticables, comprimidos sublinguales, comprimidos efervescentes, píldoras, suspensiones, polvos, gránulos y geles. En las formas farmacéuticas sólidas, el principio activo (el agonista específico de la IGF-2R) se mezcla con al menos un excipiente o portador adecuado, como citrato de sodio o fosfato dicálcico o (a) cargas o extensores, como por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, manitol o ácido silícico; (b) aglutinantes, como por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa o acacia; (c) humectantes, como por ejemplo, glicerol; (d) agentes desintegradores, como, por ejemplo, el agar-agar, el carbonato de calcio, el almidón de patata o de tapioca, el ácido algínico, ciertos silicatos complejos o el carbonato de sodio; (e) agentes retardadores de la disolución, como, por ejemplo, la parafina; (f) aceleradores de la absorción, como, por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario; (g) agentes humectantes, como, por ejemplo, alcohol cetílico o monoestearato de glicerol; (h) adsorbentes, como, por ejemplo, caolín o bentonita; y/o (i) lubricantes, como, por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio, o mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas y los

comprimidos, las formas farmacéuticas también pueden incluir agentes amortiguadores.

Las formulaciones sólidas de tipo similar también pueden utilizarse como cargas en cápsulas de gelatina rellenas blandas o duras utilizando excipientes como la lactosa o el azúcar de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares. Las formas farmacéuticas sólidas, como los comprimidos, las cápsulas y los gránulos recubiertos, pueden prepararse con recubrimientos o envolturas, como los recubrimientos entéricos y otros conocidos en la técnica. También pueden contener agentes opacificantes, y pueden formularse de manera que liberen el ingrediente o ingredientes activos de forma retardada. Ejemplos de formulaciones de incrustación que pueden utilizarse son las sustancias poliméricas y las ceras. Los ingredientes activos también pueden estar en forma microencapsulada, si procede, con uno o más de los excipientes mencionados.

Las formas de dosificación líquida para la administración oral incluyen emulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables que contienen excipientes o portadores adecuados utilizados en la técnica. Además del principio activo (es decir, el agonista específico del IGF-2 o una variante funcionalmente equivalente) la forma farmacéutica líquida puede contener uno o más excipientes o portadores comúnmente utilizados en la técnica, como agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, como por ejemplo, alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites, en particular aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de germen de maíz, aceite de oliva, aceite de ricino, aceite de semilla de sésamo, Miglyol®, glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles, ésteres de ácidos grasos de sorbitán, o mezclas de estas sustancias, y similares. Además de dichos diluyentes inertes, la formulación puede incluir también adyuvantes, como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes y agentes perfumantes. Las suspensiones, además del ingrediente o ingredientes activos, pueden contener agentes de suspensión, como por ejemplo, alcoholes isostearílicos etoxilados, sorbitol polioxilado o ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar o tragacanto, o mezclas de estas sustancias, y similares.

El agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención o la composición

farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso en la presente invención puede administrarse también en forma de parches transdérmicos o dispositivos de iontoforesis. Así, en una realización específica, un compuesto para uso según la invención se administra como un parche transdérmico, por ejemplo, en forma de parche transdérmico de liberación sostenida. Los parches transdérmicos adecuados se describen con más detalle, por ejemplo, en los documentos US5262165, US5948433, US6010715 y US6071531.

Se conocen varios sistemas de administración de fármacos que pueden utilizarse para administrar el agonista del específico IGF-2R para su uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso en la presente invención, incluyendo, por ejemplo, la encapsulación en liposomas, microburbujas, emulsiones, micropartículas, microcápsulas o mediante otros sistemas nanotecnológicos como, por ejemplo, la terapéutica polimérica y similares. La dosis requerida puede administrarse como una sola unidad o en una forma de liberación sostenida.

Las formas de liberación sostenida y los materiales y métodos apropiados para su preparación se describen en el estado de la técnica.

En una realización particular, el agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista del IGF-2R para su uso en la presente invención se administra por vía oral.

La forma administrable por vía oral del agonista específico del IGF-2R específico para su uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención puede estar en una forma de liberación sostenida que además puede comprender un recubrimiento o matriz. El recubrimiento o matriz de liberación sostenida incluye, sin limitación, polímeros naturales, semisintéticos o sintéticos insolubles en agua, modificados, ceras, grasas, alcoholes grasos, ácidos grasos, plastificantes naturales semisintéticos o sintéticos, o una combinación de dos o más de ellos. Los recubrimientos entéricos pueden aplicarse mediante procesos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

El agonista específico del IGF-2R o las composiciones farmacéuticas que lo comprenden pueden estar en cualquier forma galénica que sea adecuada para su administración al cuerpo animal, incluido el cuerpo humano, especialmente en cualquier forma que sea convencional para la administración oral, por ejemplo en

forma sólida como (aditivos/suplementos para) alimentos o piensos, premezclas para alimentos o piensos, alimentos o piensos fortificados, comprimidos, píldoras, gránulos, grageas, cápsulas y formulaciones efervescentes como polvos y comprimidos, o en forma líquida como soluciones, emulsiones o suspensiones como, por ejemplo, bebidas, pastas y suspensiones oleosas. Las pastas pueden rellenarse en cápsulas de cubierta dura o blanda. Ejemplos de otras formas de aplicación son las formas de administración transdérmica, parenteral o inyectable. Las composiciones dietéticas y farmacéuticas pueden presentarse en forma de formulaciones de liberación controlada (retardada).

Algunos ejemplos de alimentos son los productos lácteos, como los yogures.

Las bebidas abarcan tanto las no alcohólicas como las alcohólicas, así como los preparados líquidos que se añaden al agua potable y los alimentos líquidos. Las bebidas no alcohólicas son, por ejemplo, los refrescos, las bebidas deportivas, los zumos de frutas, la limonada, las bebidas casi acuáticas (es decir, las bebidas a base de agua con un bajo contenido en calorías), los té y las bebidas a base de leche. Los alimentos líquidos son, por ejemplo, sopas y productos lácteos (por ejemplo, bebidas de muesli).

En una realización preferida, el agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención se administra a través de alimentos enriquecidos. Los alimentos enriquecidos son productos a los que se añaden vitaminas, minerales u otras sustancias con un efecto nutricional o fisiológico.

El producto alimentario enriquecido de la presente invención es apropiado para el consumo humano o animal, y también puede ser un alimento para fines especiales, como alimentos para bebés, alimentos médicos, alimentos para deportistas, alimentos para el rendimiento o barras nutricionales. En las realizaciones de la presente invención, el producto alimentario enriquecido incluye, pero no se limita a, confecciones de tipo gelatina, conservas de frutas y verduras, productos lácteos como leches, fórmulas infantiles, yogures, quesos, mantequilla, margarina, batidos o helados, subproductos como leches de soja, yogures de soja o quesos de soja, leches vegetales como la de almendras o la de arroz, bebidas, jarabes, postres como flanes, natillas u otros alimentos pastosos o cremosos, y formulaciones de confitería, como chicles, chocolates, caramelos masticables, caramelos duros, caramelos hervidos, caramelo, dulce de leche, jaleas, gominolas, caramelos de gelatina o productos de panificación duros y blandos. El agonista específico del IGF-2R para su uso según la

invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso en la presente invención pueden añadirse directamente al producto alimentario enriquecido, o pueden suministrarse en sobres separados. El agonista específico del IGF-2R para su uso según la invención o la composición farmacéutica que contiene el agonista específico del IGF-2R para su uso en la presente invención puede añadirse directamente a una formulación de tipo gelatina en postres listos para comer o productos infantiles.

El producto alimentario enriquecido de la invención contiene del 0,001% al 10% en peso del agonista específico del IGF-2R, preferentemente del 0,01 al 1%.

En una realización preferida, el alimento enriquecido se selecciona del grupo que consiste en leche natural, leche artificial y calostro.

#### Composiciones

En un segundo aspecto, la invención se refiere a una composición que comprende un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-2 (IGF-2) y un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

Los términos "agonista específico del IGF-2R", "enfermedad de Parkinson" y "asociado al parkinsonismo" se han definido en el contexto del primer aspecto de la invención y se aplican igualmente al presente aspecto de la invención.

La cantidad del agonista específico del IGF-2R presente en la composición de la invención puede variar dentro de un amplio rango, sin embargo, en una realización particular, el porcentaje en peso del agonista específico del IGF-2R con respecto a la composición total de la invención es de al menos 0,10% 0,50%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 15% 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, o, al menos, 95%.

La proporción en peso del agonista específico del IGF-2R y del al menos el segundo componente de la composición en la composición de la invención puede variar dentro de un amplio rango, sin embargo, en general, la proporción se elige, teniendo en cuenta factores como la condición que se está tratando, la edad, el sexo, el peso, etc., del sujeto que recibe la composición inventiva. Preferentemente, dicha proporción en peso del agonista específico del IGF-2R y del segundo componente de la invención es una que resulta en un efecto beneficioso, en particular, un aumento del efecto

terapéutico de la composición de la invención en relación con cada uno de sus componentes, de manera que puede alcanzar el mismo resultado con dosis más bajas de cada uno de los componentes, reduciendo así los efectos secundarios en el sujeto que recibe la composición de la invención. En una realización, el compuesto de la  
5 composición de la invención adecuado para el tratamiento de una enfermedad asociada a la formación de depósitos amiloides se selecciona del grupo que consiste en:

- (i) un precursor de la dopamina y un inhibidor de la DOPA descarboxilasa (DDCI),
- (ii) un agonista de la dopamina,
- 10 (iii) un inhibidor de la MAO-B,
- (iv) un inhibidor de la catecol O-metiltransferasa (COMT),
- (v) un anticolinérgico, y
- (vi) un antagonista nicotínico y/o un antagonista NMDA no competitivo.

Los precursores de la dopamina incluyen, sin limitación, la levodopa y sus  
15 profármacos, como la melevodopa, el éster metílico de la levodopa, que se divulga en el documento EP 252,290 B.

El término "inhibidor de la DOPA descarboxilasa" se refiere a un fármaco que inhibe el metabolismo periférico de la levodopa a dopamina por la L-aminoácido descarboxilasa aromática, como la carbidopa y la benserazida, "Agonista de la dopamina", tal como  
20 se utiliza en el presente documento, se refiere a un compuesto que es capaz de unirse a uno o más subgrupos de receptores de dopamina, lo que produce un efecto terapéutico beneficioso en un individuo tratado con el agonista. Los agonistas de la dopamina descritos en el presente documento suelen ser agonistas de al menos el subgrupo D2 de los receptores de la dopamina, y también pueden ser agonistas de los  
25 receptores D1 y/o D3. Los agonistas de la dopamina incluyen, sin limitación, la apomorfina, la lisurida, la pergolida, la bromocriptina, el pramipexol, el ropinerole o la rotigotina, o una combinación de dos o más de estos agonistas de la dopamina.

Los inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO) son una clase de fármacos que inhiben la actividad de una o ambas enzimas de la monoamino oxidasa: la monoamino  
30 oxidasa A (MAO-A) y la monoamino oxidasa B (MAO-B). Son conocidos como antidepresivos de gran eficacia, así como agentes terapéuticos efectivos para el

- trastorno de pánico y la fobia social. Entre los ejemplos no limitantes de IMAO se incluyen, sin limitación, los inhibidores no selectivos de la MAO-A/MAO-B, como la hidracina (antidepresivo), la isocarboxazida (Marplan), la hidracarbazina, la fenelzina (Nardil), las no hidracinas, la tranilcipromina (Parnate, Jatrosom), los inhibidores selectivos de la MAO-A, el bifemelano (Alnert, Celeport) (disponible en Japón), Moclobemida (Aurorix, Manerix), Pirlindol (Pirazidol) (disponible en Rusia), Toloxatona (Humoryl) (disponible en Francia) e inhibidores selectivos de la MAO-B como Rasagilina (Azilect), Selegilina (Deprenyl, Eldepryl, Emsam, Zelapar), Safinamida (Xadago) o los IMAOs reversibles Linezolid y Azul de Metileno.
- 10 Un inhibidor de la catecol-O-metiltransferasa (COMT) es un fármaco que inhibe la enzima catecol-O-metiltransferasa. Esta enzima metila catecolaminas como la dopamina, la norepinefrina y la epinefrina. También metila la levodopa. Ejemplos no limitantes de inhibidores COMT incluyen, sin limitación, entacapona (Comtan, Comtess, Stalevo), nebicapona, nitecapona, opicapona (Ongentys) y tolcapona (Tasmar).

Los anticolinérgicos (agente anticolinérgico) son un grupo de sustancias que bloquean la acción del neurotransmisor llamado acetilcolina (ACh) en las sinapsis del sistema nervioso central y periférico. A grandes rasgos, los anticolinérgicos se dividen en dos categorías de acuerdo con sus objetivos específicos en el sistema nervioso central y periférico y en la unión neuromuscular: agentes antimuscarínicos y agentes antinicotínicos (bloqueadores ganglionares, bloqueadores neuromusculares).

El término "anticolinérgico" se utiliza normalmente para referirse a los antimuscarínicos que inhiben de forma competitiva la unión de la ACh a los receptores muscarínicos de acetilcolina; dichos agentes no antagonizan la unión a los receptores nicotínicos de acetilcolina en la unión neuromuscular, aunque el término se utiliza a veces para referirse a agentes que sí lo hacen. Algunos ejemplos de agentes antimuscarínicos son Antipsicóticos (clozapina, quetiapina), Atropina, Benztropina, Biperiden, Clorfeniramina, Paroxetina, Diccilomina (dicroloverina), Dimenhidrinato, Difenhidramina, Doxepina, Doxilamina, Glicopirrolato, Glicopirronio, Hiosciamina, Ipratropio, Orfenadrina, Oxitropio, Oxibutinina, Prometazina, Bromuro de propantelina, Escopolamina, Solifenacina, Tolterodina, Tiotropio, Antidepresivos tricíclicos, Trihexifenidilo, Tropicamida y Umeclidinio. Los ejemplos de agentes antinicotínicos incluyen, sin limitación, Bupropión, Dextrometorfano, Doxacurio, Hexametonio, Mecamilamina y Tubocurarina.

Los antagonistas nicotínicos son un tipo de fármaco anticolinérgico que inhibe la acción de la acetilcolina (ACh) en los receptores nicotínicos de acetilcolina. Los ejemplos de antagonistas nicotínicos incluyen, sin limitación, Hexamethonium, Mecamylamine, Trimethaphan, Atracurium, Doxacurium, Mivacurium, Pancuronium, Tubocurarine, Mecamylamine, Vecuronium, Succinylcholine, 18-Methoxycoronaridine, Dextromethorphan, Dextrorphan, 3-Methoxymorphinan y Botulinum Toxin.

En una realización preferida,

- (i) el precursor de la dopamina es Levodopa y el inhibidor de la DOPA descarboxilasa es Carvidopa;
- (ii) el agonista de la dopamina se selecciona entre pramipexol, ropinirol, rotigotina y apomorfina;
- (iii) el inhibidor de la MAO se selecciona entre la selegilina, la rasagilina y la safinamida;
- (iv) el inhibidor de la catecol O-metiltransferasa (COMT) se selecciona entre la Entacapona y la Tolcapona;
- (v) el anticolinérgico se selecciona entre la benztropina y el trihexifenidilo;
- (vi) el antagonista nicotínico y/o un antagonista NMDA no competitivo es Amantadina.

En otro aspecto, la invención se refiere a la composición según la invención para su uso en medicina.

Alternativamente, la invención se refiere al uso de una composición según la invención para la fabricación de un medicamento.

En otro aspecto, la invención se refiere a la composición de la invención para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

Alternativamente, la invención se refiere a un método de tratamiento y/o prevención de la enfermedad de Parkinson y de los trastornos asociados al parkinsonismo, cuyo método comprende administrar a un paciente que necesita dicho tratamiento una composición según la invención.

Además, la invención se refiere al uso de una composición según la invención para la

fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

En una realización particular, el trastorno asociado al parkinsonismo se selecciona entre la enfermedad de Parkinson de inicio joven, la parálisis supranuclear, la atrofia multisistémica, la enfermedad de cuerpos de Lewy o la demencia con cuerpos de Lewy y la degeneración corticobasal.

#### Método de invención

En un último aspecto, la invención se refiere a un método in vitro para identificar un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo que comprende

(a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que expresa el receptor del IGF-2 en condiciones apropiadas para la unión del compuesto y el receptor del IGF-2 y

(b) determinar la actividad del receptor del IGF-2,

en el que si la actividad del receptor del IGF-2 después de entrar en contacto con el compuesto candidato es superior a un valor de referencia, el compuesto candidato es adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

Los términos "enfermedad de Parkinson", "asociado al parkinsonismo" e "IGF-2R" ya se han descrito y se aplican igualmente al presente aspecto de la invención.

El término "in vitro", tal como se utiliza aquí, se refiere a que el método no se lleva a cabo en el cuerpo de un sujeto humano o animal, sino en células o fluidos aislados de dicho sujeto o en un tubo de ensayo. El término "contacto", tal y como se utiliza aquí, se refiere al proceso por el que el compuesto candidato entra en contacto con la célula o población celular que expresa el receptor del IGF-2 e incluye cualquier método posible que permita que el compuesto candidato interactúe con la población celular que expresa el IGF-2R. Así, al entrar en contacto el compuesto candidato con la célula o población celular que expresa el IGF-2R, el compuesto candidato se une al IGF-2R dando lugar a su activación. Los medios de contacto del compuesto candidato con la célula o población celular que expresa el IGF-2R varían en función del entorno de la célula. Por ejemplo, el compuesto candidato puede administrarse a una célula en cultivo añadiendo el compuesto candidato al medio de cultivo celular. En una

realización particular, el compuesto candidato se administra a un cultivo celular o a un tejido extraído.

En una realización particular, el compuesto candidato se introduce en una muestra que tiene al menos una célula, o población de células, en un tubo de ensayo, matraz, cultivo  
5 de tejidos, placa o similar y se incuba a una temperatura y tiempo suficientes para permitir la interacción del compuesto candidato con el receptor IGF-2R.

El término "determinar" incluye la evaluación y medición de la activación del IGF-2R, por ejemplo, mediante la evaluación de cualquiera de los parámetros probados en los ejemplos de la presente solicitud, como la reducción de la muerte celular, la  
10 peroxidación de lípidos, la oxidación de proteínas, la producción de radical superóxido o los niveles de la enzima mitocondrial inducible SOD, el daño mitocondrial, así como el restablecimiento de la actividad de la enzima diaforasa, la actividad de la glutatión S-transferasa o la expresión de la enzima TH.

La expresión "la actividad del receptor del IGF-2 después de ser contactado con IGF-  
15 2 es superior a un valor de referencia" se refiere preferentemente, aunque no necesariamente, a una actividad del IGF-2R que es al menos un 10%, más preferentemente al menos un 50%, aún más preferentemente al menos un 100%, y aún más preferentemente al menos un 150% superior en la actividad del IGF-2R en el control. El aumento de la actividad, por ejemplo, puede ser el resultado de un aumento  
20 de la actividad basal del IGF-2R, de una estimulación prolongada, de una degradación retardada o de una sobreexpresión, por ejemplo, debida a una mayor unión del ligando, a una unión promiscua o inapropiada del ligando, a una activación constitutiva del receptor, a un reciclaje deteriorado que da lugar a un aumento de la señalización o a una degradación retardada.

En una realización particular, la actividad del receptor del IGF-2 que tiene que determinarse en el método de la invención es una de las actividades que se desencadena por la unión del IGF-2 al receptor del IGF-2. Ya se ha mencionado una  
25 lista de estas actividades al describir los agonistas específicos del receptor del IGF-2. Ejemplos ilustrativos no limitativos de ensayos para determinar la actividad del IGF-2R son los ensayos capaces de determinar si un compuesto que se une al IGF-2R imita  
30 el efecto de la unión del IGF-2 al IGF-2R mencionado anteriormente.

El término "control" o "valor de referencia", tal como se utiliza aquí, se refiere a un criterio predeterminado utilizado como referencia para evaluar los valores o datos

obtenidos de las muestras de ensayo. El valor de referencia o nivel de referencia puede ser un valor absoluto; un valor relativo; un valor que tiene un límite superior o inferior; un rango de valores; un valor promedio; un valor mediano; un valor medio; o un valor en comparación con un control particular o un valor de referencia. Un valor de referencia puede basarse en un valor de muestra individual, como por ejemplo, un valor obtenido de una muestra del sujeto que se está analizando, pero en un momento anterior. El valor de referencia puede basarse en un gran número de muestras, o en un conjunto de muestras que incluyan o excluyan la muestra que se va a analizar. En una realización, el valor de referencia corresponde a la actividad del receptor del IGF-2 antes de entrar en contacto con la célula o población celular con el compuesto candidato. En otra realización, el valor de referencia corresponde a la actividad del receptor del IGF-2 en una célula o población celular que no ha sido puesta en contacto con el compuesto candidato.

La invención se describirá mediante los siguientes ejemplos, que deben considerarse meramente ilustrativos y no limitativos del alcance de la invención.

### **Ejemplos**

A continuación, se describen dos estudios sobre el efecto del tratamiento con el IGF-2. El primero de ellos es sobre neuronas dopaminérgicas en cultivo (células SN4741) y el segundo sobre un modelo de Parkinson en ratones macho (C57BL/6J).

#### **1.- Caracterización del modelo celular:**

Se diseñó un experimento para estudiar los efectos antioxidantes y neuroprotectores del IGF-2 a través de su receptor específico.

Para desarrollar este experimento se utilizó la línea celular SN4741 de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra (proporcionada por el Prof. Ernest Arena, Instituto Karolinska, Estocolmo). Estas células expresan receptores para el IGF-2, tal y como demuestra la inmunocitoquímica del receptor mostrada en la figura 2. Para inhibir los otros receptores por los que el IGF-2 tiene menos afinidad, se utilizó el BS-536924 (TOCRIS), que inhibe el efecto tirosina quinasa de los receptores IGF-Ir y RIns. Dado que no existen antagonistas específicos para inhibir los efectos del IGF-2 mediados por su propio receptor, se utilizó un anticuerpo contra él (AF-292 R&D System). Se estudiaron los efectos protectores del IGF-2 a tiempo final (8 h), y los mecanismos implicados con la homeostasis de la REDOX, así como la función neuronal a tiempo corto (2,5 h) siguiendo el esquema mostrado en la figura 3. En

algunos experimentos, relacionados con mecanismos esenciales para la neuroprotección, se incluyó el agonista completo Leu[27]IGF-2 (Gropen) para demostrar la eficacia neuroprotectora de los agonistas del IGF-2r.

## 2.- Caracterización del modelo animal:

- 5 Se utilizaron ratones macho de la cepa C57BL/6J (10 semanas de edad, 30 g aproximadamente) distribuidos en los 4 grupos siguientes siguiendo el esquema mostrado en la figura 4:
  - Control (n=8): administración intraperitoneal (ip) de vehículo (PBS) durante 45 días.
  - 10 - Control+IGF-2 (n=8): administración subcutánea (sc) del IGF-2, 1,5µg/100g de peso/día dividido en dos dosis durante 44 días.
  - MPTP (n=8): administración ip de probenecid 25mg/100g (ip) más administración sc de MPTP 2,4mg/100g, dos veces por semana durante 35 días.
  - 15 - MPTP+IGF-2 (n=11): administración sc del IGF-2, 1,5µg/100g de peso/día dividido en dos dosis más administración sc de MPTP 2,4mg/100g dos veces por semana durante 44 días.

El día 44, se les hizo la prueba motora y el día 45 se les anestesió y perfundió.

## 3.- Parámetros a estudiar en el modelo celular

- 20 La figura 5 muestra las vías de la homeostasis REDOX con los parámetros evaluados en negrita. Para evaluar la eficacia del tratamiento en relación con la supervivencia celular, se cuantificó la LDH y se analizó el porcentaje de muerte celular tras la coincubación con MPP+ en presencia y ausencia del IGF-2; también se evaluó el daño oxidativo mediante la cuantificación de hidroperóxidos lipídicos y proteínas oxidadas (Martín-Montanez et al., 2014), así como la producción de radicales superóxido
  - 25 mediante citometría de flujo utilizando la sonda dihidroetidina y la actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa (Martín-Montanez et al., Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(7): 1041-51).

- 30 El estudio de la función mitocondrial se realizó midiendo el potencial de membrana mitocondrial por citometría de flujo con la sonda JC1 y la actividad de la enzima citocromo c oxidasa de la cadena de transporte de electrones por métodos espectrofotométricos utilizando el autoanalizador COBAS MIRA (Martín-Montanez et

al., Redox Biol., 2017, 13: 69-81). El análisis de la morfología mitocondrial se realizó mediante microscopía electrónica.

También se cuantificaron las actividades de las enzimas antioxidantes GST y diaforasa inducidas por Nrf2 mediante métodos espectrofotométricos utilizando el autoanalizador COBAS MIRA (Martín-Montañez et al., Free Radic Biol Med., 2019, 137: 116-30).

Finalmente, la función neuronal se evaluó mediante el análisis por inmunohistoquímica y microscopía confocal de la expresión de la enzima tiroxina hidroxilasa (TH) (Andrews et al., Eur J Neurosci., 2006, 24(1): 32-6).

#### 10 **4.- Parámetros a estudiar en el modelo animal**

Para evaluar el efecto neuroprotector del IGF-2 en las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra pars compacta, se examinó la expresión de TH en cerebros de ratón mediante inmunohistoquímica y posterior análisis estereológico (Andrews et al., 2006, supra). Para evaluar los síntomas motores, se utilizó la prueba Rotarod (De Guevara-Miranda et al., DDM Dis Model Mech., 2017, 10(3): 323-36). Se realizaron estudios para cuantificar la supervivencia mediante el análisis de las curvas de supervivencia.

#### **5.- Resultados**

Las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra (SN4741) expresan receptores para el IGF-2, como se demuestra en la inmunocitoquímica para el receptor mostrada en la figura 2, lo que las hace útiles para estudiar los parámetros determinados en el modelo celular descrito anteriormente.

La incubación de las neuronas SN4741 con MPP+ a las dosis utilizadas indujo un daño celular que condujo a un aumento estadísticamente significativo de la muerte neuronal del 23 % en comparación con los controles (figura 6). La coincubación de MPP+ en presencia del IGF-2, redujo el porcentaje de muerte neuronal al mismo nivel que las neuronas de control. Los mismos resultados se obtuvieron cuando se repitieron estos experimentos en presencia de BMS (inhibidor del receptor del IGF-2 y de la insulina), lo que indica que el efecto protector del IGF-2 está mediado por la interacción con su receptor específico IGF-2r; este hecho se confirmó cuando se incluyó en el medio de incubación un anticuerpo contra el receptor IGF-2r, que hizo que el parámetro de muerte celular alcanzara valores muy similares a los obtenidos en el grupo de neuronas incubadas con el MPP+ neurotóxico (figura 6).

En cuanto al efecto antioxidante y neuroprotector del IGF-2 mediado por su interacción con el receptor específico del IGF-2r, se obtuvieron los resultados que se describen a continuación:

- 5 Tras la incubación de las neuronas con MPP<sup>+</sup> se produjo un aumento de la peroxidación lipídica y de la oxidación proteica en comparación con los controles (figura 7). En ambos parámetros, la coincubación de MPP<sup>+</sup> en presencia del IGF-2 condujo a valores similares a los obtenidos en el grupo control. De nuevo, utilizando el anticuerpo selectivo para IGF-2r (AB), se demostró que el efecto obtenido se debe a la interacción del IGF-2 con su receptor específico (figura 7).
- 10 En cuanto a la producción de radical superóxido, se observó un aumento en las neuronas incubadas con MPP<sup>+</sup> en comparación con los controles. Este aumento volvió a valores iguales a los controles cuando el MPP<sup>+</sup> fue coincubado en presencia del IGF-2. El bloqueo del receptor del IGF-1r e insulina (BMS) no modificó el efecto antioxidante del IGF-2, demostrando que este comportamiento era el resultado de la
- 15 interacción del IGF-2 con su receptor específico (figura 8). Como consecuencia del incremento del radical superóxido, se observó un aumento de la enzima SOD mitocondrial inducible en comparación con las células control en el grupo tratado con MPP<sup>+</sup>. Una vez más, este aumento volvió a valores iguales a los de los controles cuando el MPP<sup>+</sup> se coincubó en presencia del IGF-2. Este efecto beneficioso del IGF-
- 20 2 fue revertido por la inclusión en el medio de coincubación del anticuerpo contra el IGF-2r (figura 9).

- La función mitocondrial se estudió midiendo el potencial de la membrana mitocondrial, la actividad de la citocromo c oxidasa y los estudios morfológicos mediante microscopía electrónica. En los estudios de potencial de membrana, citocromo c
- 25 oxidasa y morfología, se observó que el daño mitocondrial inducido por el MPP<sup>+</sup> se invertía mediante la coincubación del MPP<sup>+</sup> con el IGF-2 (figuras 10-11). Utilizando las mismas estrategias que en los experimentos anteriores (incubación en presencia de BMS o AB), se demostró que el efecto neuroprotector del IGF-2 estaba mediado por la interacción con su receptor específico IGF-2r.

- 30 Cuando se comprobó la actividad de las enzimas antioxidantes dependientes del factor de transcripción antioxidante Nrf2, se encontró una disminución del 70% en la actividad de la diaforasa en las neuronas expuestas al tóxico MPP<sup>+</sup>. Esta disminución se revirtió a valores similares al control con la coincubación del tóxico en presencia del IGF-2 (figura 12). La actividad de la enzima glutatión-S-transferasa no se vio alterada por la

incubación con el tóxico, sin embargo, la adición del IGF-2 al medio de incubación produjo un aumento de la actividad de la enzima del 74% respecto al control. Este efecto fue mediado, por el receptor específico del IGF-2r (figura 12).

En los experimentos de neuroprotección, medida como la expresión de la enzima que limita la síntesis del neurotransmisor dopamina (tirosina hidroxilasa (TH)), se encontró  
5 que la incubación de las neuronas con el tóxico MPP+ produjo una disminución de la expresión de la enzima del 63% con respecto al control. La coincubación del tóxico con el IGF-2 aumentó los niveles de expresión de TH por encima de los obtenidos en el grupo control (35%). De nuevo, este efecto fue mediado por el receptor específico  
10 del IGF-2r, ya que el bloqueo de los receptores del IGF-1r e insulina con BMS no modificó el aumento de la expresión de TH (figura 13).

Cuando se utilizó el agonista del IGF-2r, Leu[27]IGF-2, en los experimentos celulares, los resultados fueron muy similares a los obtenidos con el agonista natural IGF-2 (figura 14).

Estos datos sobre el efecto neuroprotector conseguido en el modelo celular se confirmaron en el modelo animal. En los ratones, la cuantificación de los experimentos  
15 inmunohistoquímicos mostró que las secciones histológicas de los animales tratados con el tóxico MPTPp expresan un 70% menos de células positivas para TH en la sustancia negra pars compacta (figura 15). De nuevo, la coadministración del tóxico junto con el IGF-2 evitó el daño celular, y se obtuvieron valores de células TH-positivas  
20 similares a los obtenidos en los animales del grupo control. En cuanto a las manifestaciones motoras, los animales tratados con el tóxico mostraron un rendimiento mucho peor en la prueba Rotarod, con una disminución del tiempo de latencia a la caída del 28% en comparación con los controles. De nuevo, la administración conjunta  
25 del tóxico con el IGF-2 recupera el tiempo de latencia a la caída hasta los niveles del grupo control. Esta mejora de los síntomas motores se relacionó con el número de células TH positivas en estos animales ( $r=0,544$ ,  $p<0,01$ ) (figura 16).

Por último, en cuanto a la mortalidad de los animales de experimentación, se observó una tasa de mortalidad del 33% en el grupo tratado con MPTPp, mientras que no hubo  
30 muertes en el grupo que fue coadministrado con el IGF-II ( $p<0,05$ ) (figura 17).

## **REIVINDICACIONES**

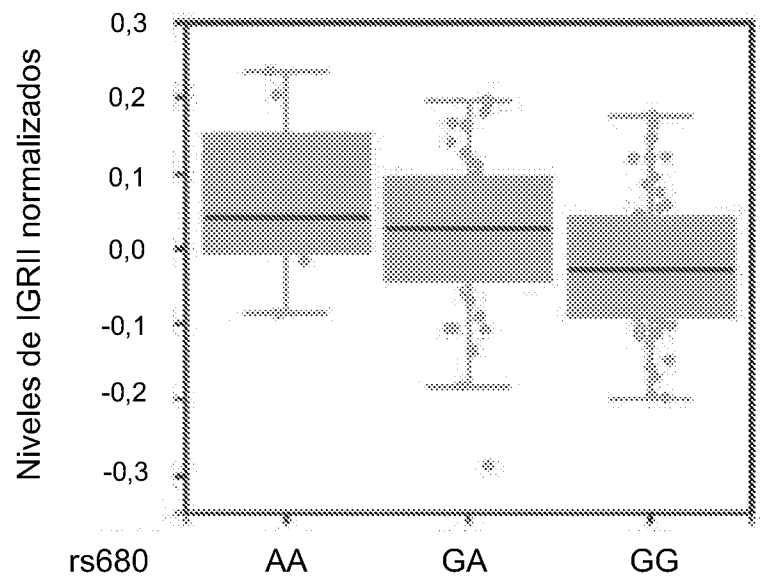
1. Un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGF-2) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la  
5 prevención y/o tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.
2. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la reivindicación 1 caracterizado por que el agonista se selecciona del grupo consistente en IGF-2, Leu[27]IGF-II y M6PRBP1.
- 10 3. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la reivindicación 2 caracterizado por que el agonista es IGF-2 o una variante funcionalmente equivalente del este.
4. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la reivindicación 2 caracterizado por que el agonista es Leu[27]IGF-II o una variante funcionalmente  
15 equivalente del este.
5. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 caracterizado porque el uso es en la prevención y/o tratamiento de la enfermedad de Parkinson.
- 20 6. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 caracterizado por que el trastorno asociado al parkinsonismo se selecciona del grupo consistente en el parkinsonismo inducido por fármacos, la enfermedad de Parkinson de aparición temprana, la parálisis supranuclear, la atrofia multisistémica, la enfermedad de los cuerpos de Lewy y la demencia con cuerpos de Lewy, la esclerosis lateral primaria, la esclerosis  
25 múltiple, la degeneración corticobasal y el parkinsonismo vascular.
7. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 caracterizado por que el agonista se administra oralmente.
8. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la reivindicación 7 caracterizado por que el agonista se administra a través de alimentos  
30 fortificados.
9. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según la reivindicación 8 caracterizado por que el alimento fortificado se selecciona del grupo consistente en leche natural, leche artificial y calostro.

10. El agonista específico del receptor del IGF-2 para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 caracterizado por que el agonista está comprendido en una composición farmacéutica con un portador farmacéuticamente aceptable.
11. Una composición que comprende un agonista específico del receptor del factor de crecimiento similar a la insulina 2 (IGF-2) y un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo, en donde el compuesto adecuado para el tratamiento de una enfermedad asociada con la formación de depósitos amiloides se selecciona del grupo consistente en:
- (i) un precursor de la dopamina y un inhibidor de la DOPA descarboxilasa (DDCI)
  - (ii) un agonista de la dopamina,
  - (iii) un inhibidor de la MAO-B,
  - (iv) un inhibidor de la catecol O-metiltransferasa (COMT),
  - (v) un anticolinérgico, y
  - (vi) un antagonista nicotínico y/o un antagonista NMDA no competitivo.
12. La composición según la reivindicación 11 caracterizada por que:
- (i) el precursor de la dopamina es Levodopa y el inhibidor de la DOPA descarboxilasa es Carvidopa;
  - (ii) el agonista de la dopamina se selecciona entre pramipexol, ropinirol, rotigotina y apomorfina;
  - (iii) el inhibidor de la MAO se selecciona entre la selegilina, la rasagilina y la safinamida;
  - (iv) el inhibidor de la catecol O-metiltransferasa (COMT) se selecciona entre la Entacapona y la Tolcapona;
  - (v) el anticolinérgico se selecciona entre la benztropina y el trihexifenidilo;
  - (vi) el antagonista nicotínico y/o un antagonista NMDA no competitivo es Amantadina.
13. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12 para uso en medicina.
14. La composición según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13 para uso tratamiento de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.
15. La composición según la reivindicación 14 caracterizado por que el trastorno asociado al parkinsonismo se selecciona del grupo consistente en la enfermedad de Parkinson de aparición temprana, la parálisis supranuclear, la atrofia

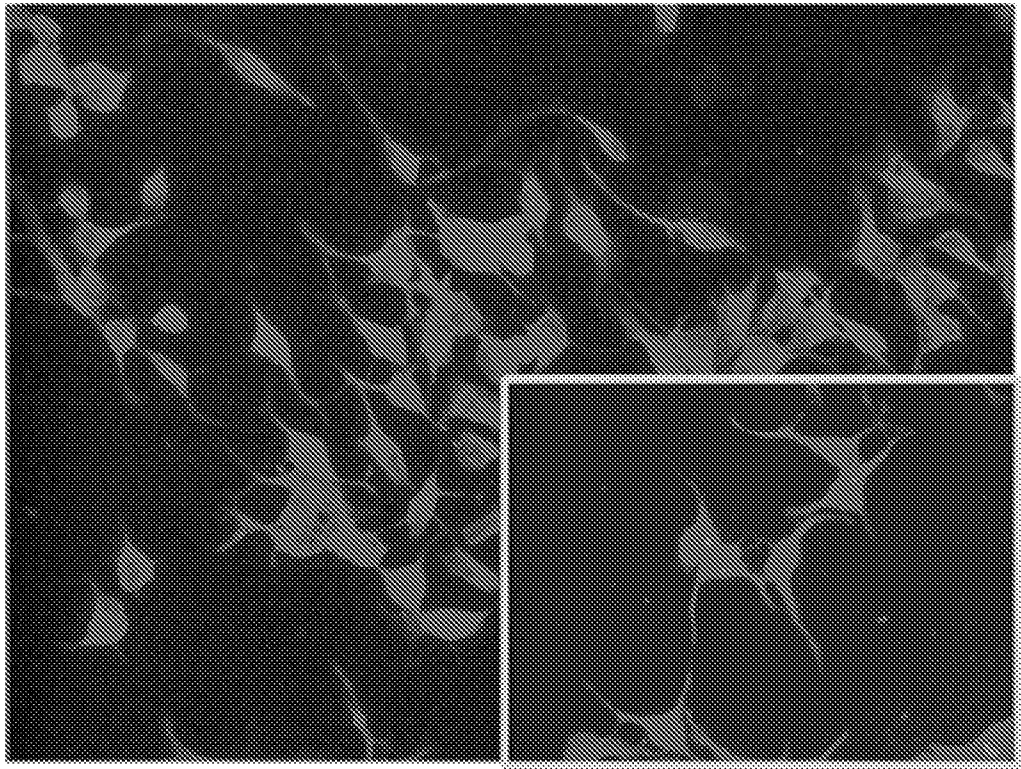
multisistémica, la enfermedad de los cuerpos de Lewy o la demencia con cuerpos de Lewy, y la degeneración corticobasal.

16. Un método in vitro para identificar un compuesto adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo que comprende
- 5 (a) poner en contacto un compuesto candidato con una célula que expresa el receptor del IGF-2 en condiciones apropiadas para la unión del compuesto y el receptor del IGF-2 y
- (b) determinar la actividad del receptor del IGF-2;
- 10 caracterizado por que si la actividad del receptor del IGF-2 después de entrar en contacto con el compuesto candidato es superior a un valor de referencia, el compuesto candidato es adecuado para el tratamiento y/o la prevención de la enfermedad de Parkinson y los trastornos asociados al parkinsonismo.

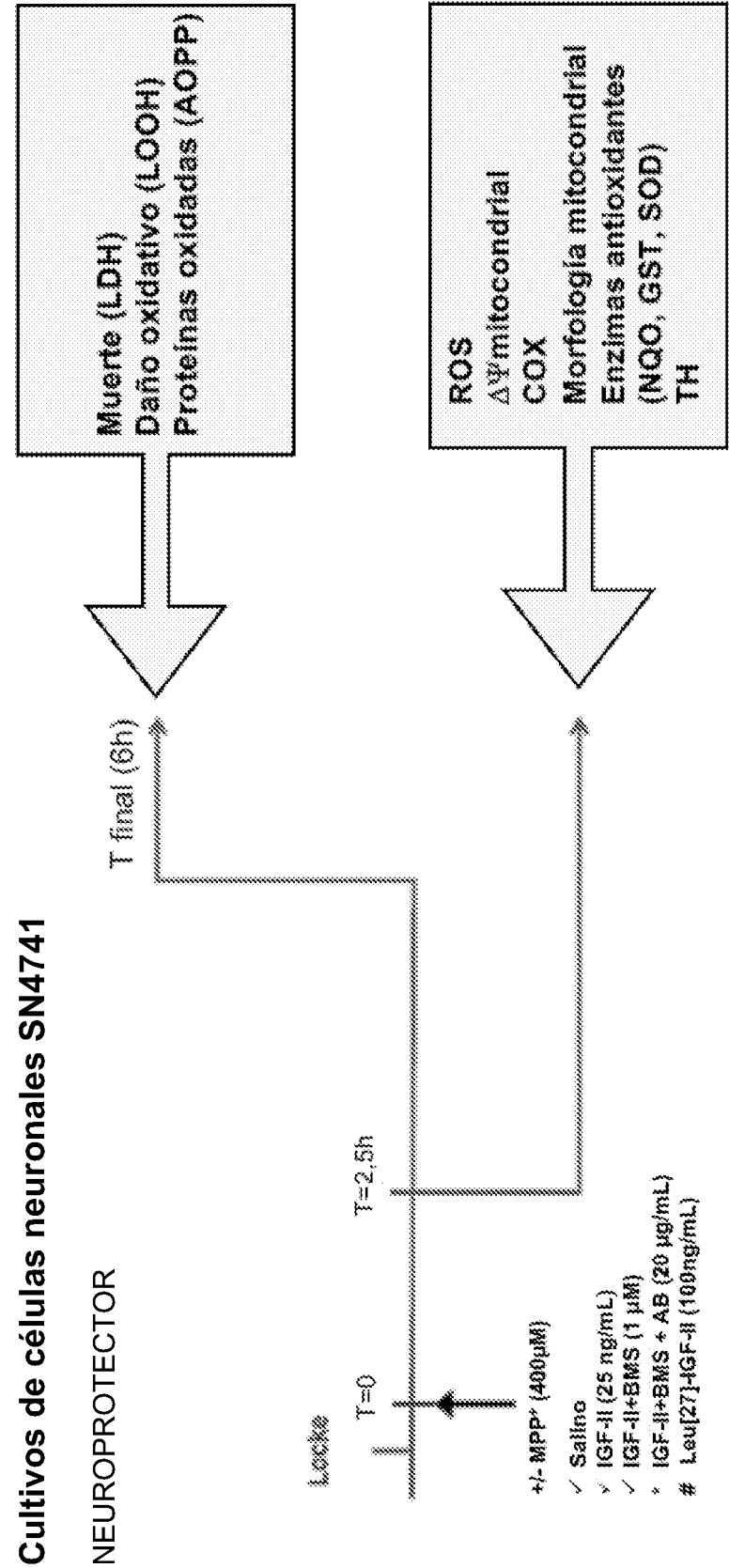
**DIBUJOS**



**FIG. 1**



**FIG. 2**



BMS-536924 inhibidor de IGF1R/IR tirosin quinasa  
\*Anticuerpo de bloqueo frente a RIGFII que se utilizará 30 min antes solo en los experimentos de comprobación necesarios  
#Análogo del IGF-II humano

FIG. 3

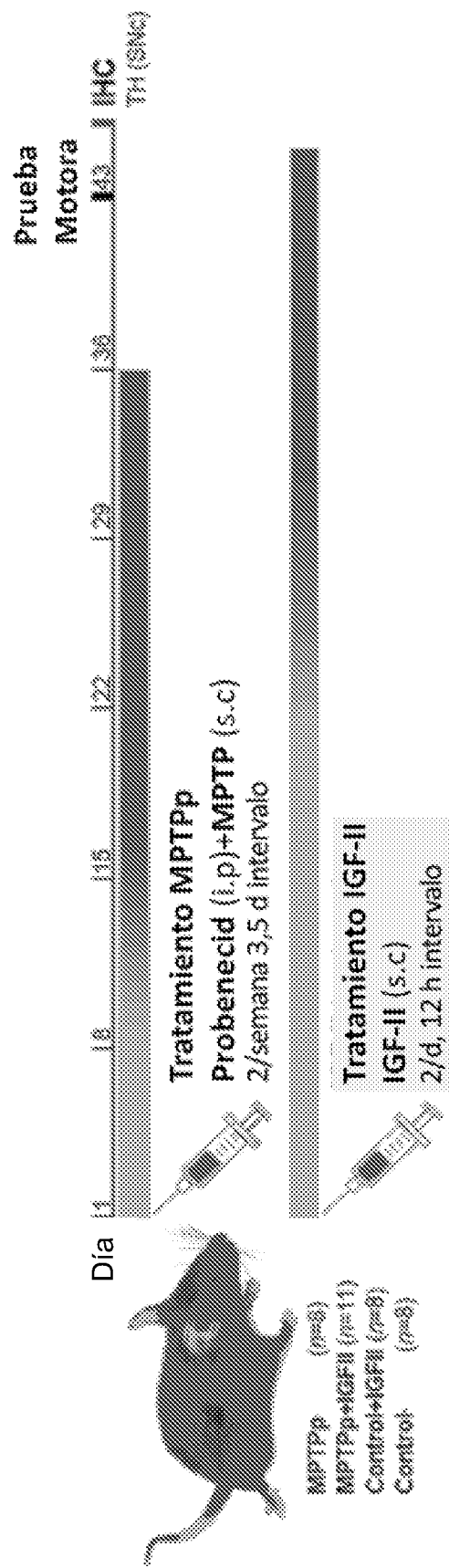


FIG. 4

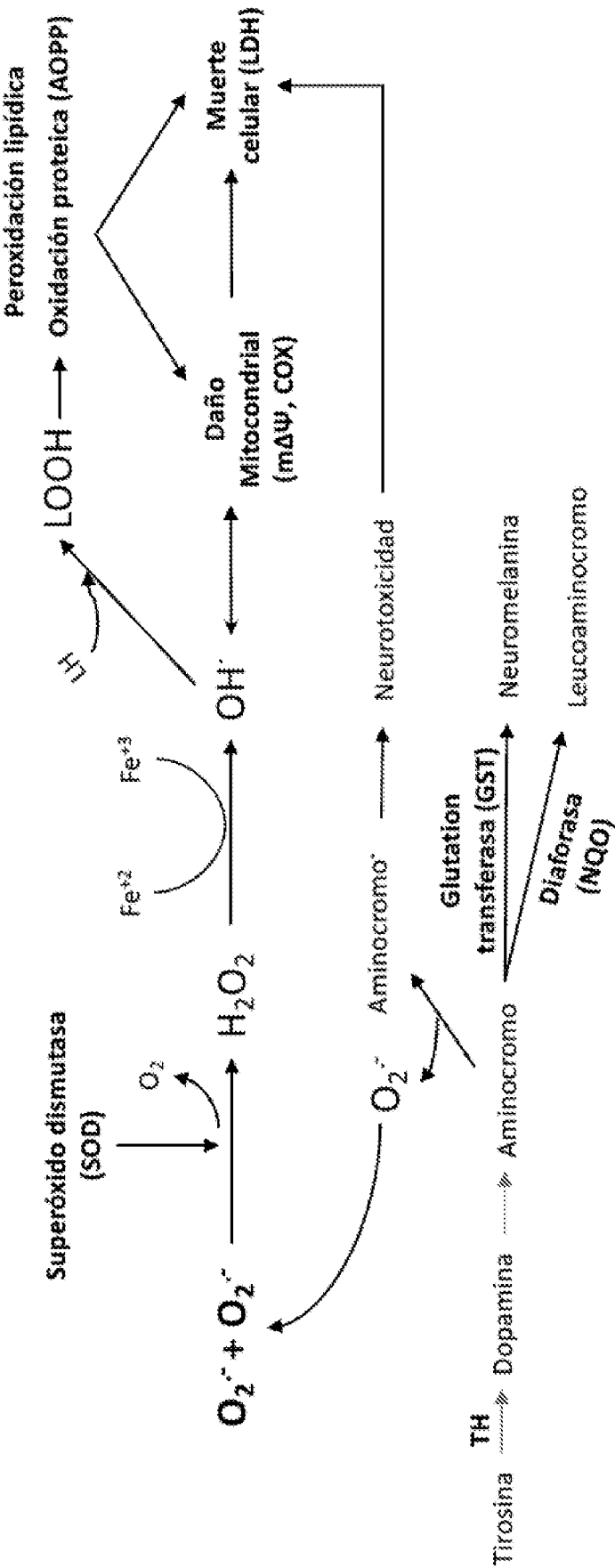


FIG. 5

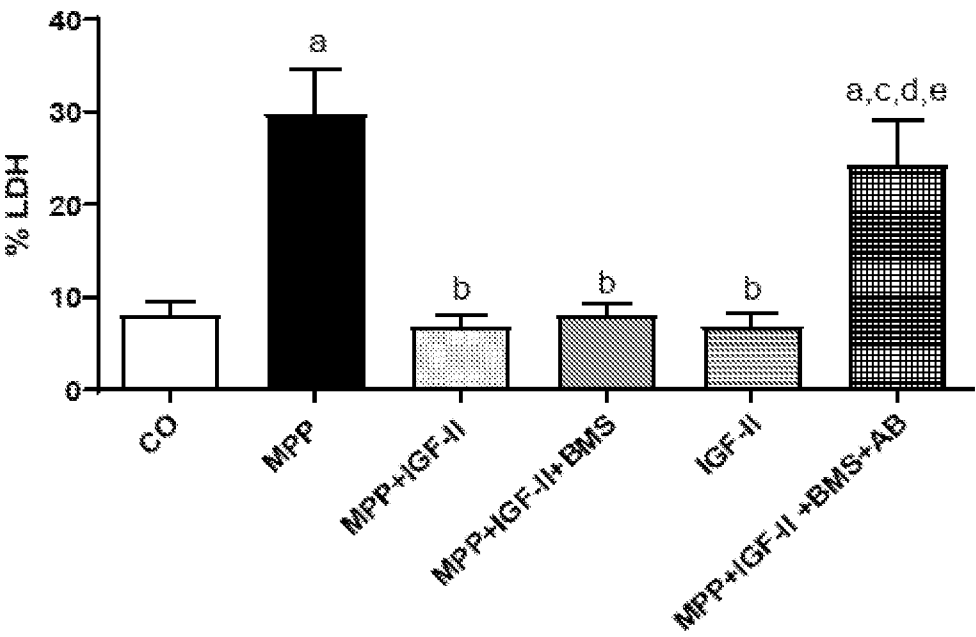


FIG. 6

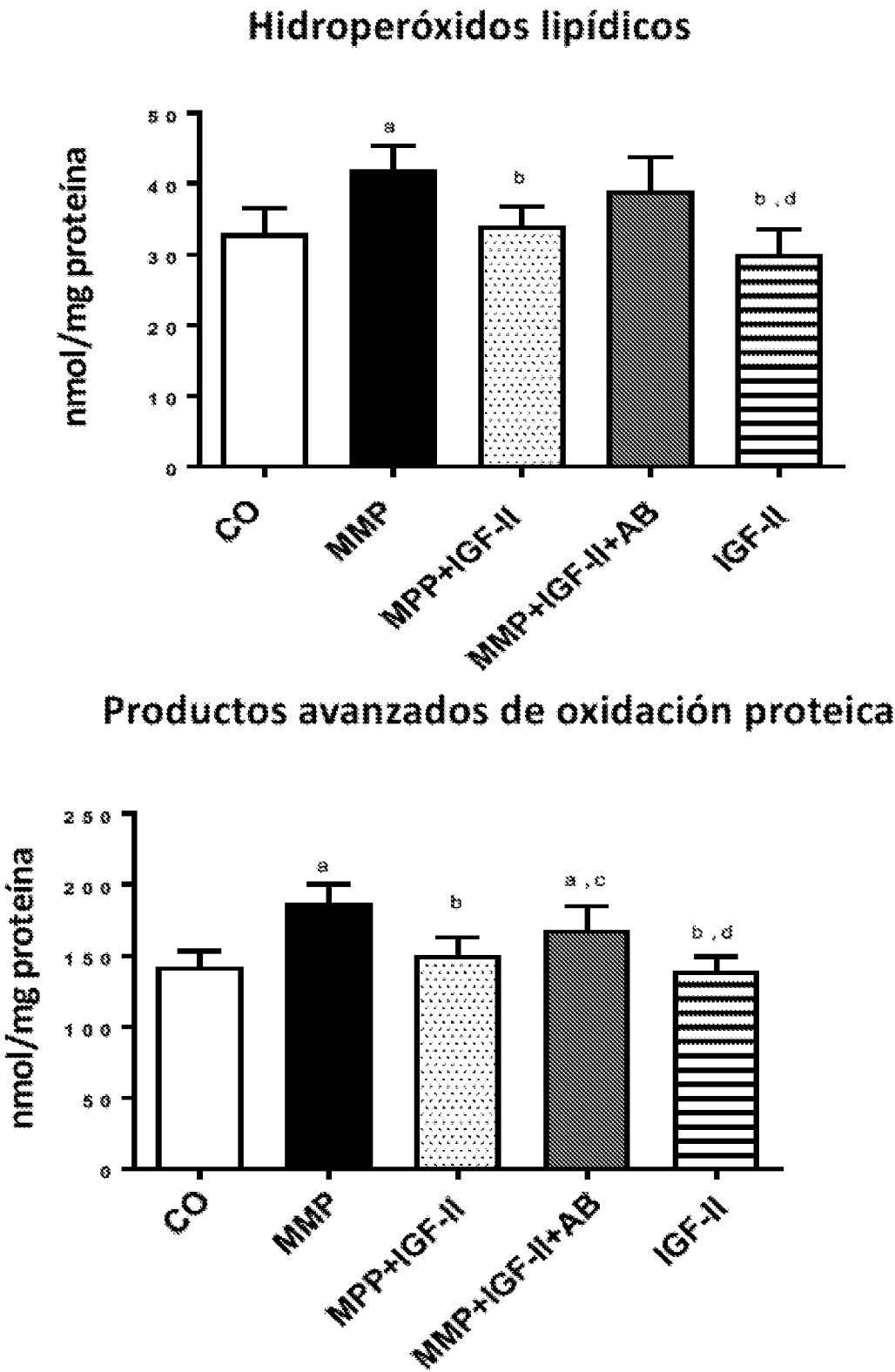


FIG. 7

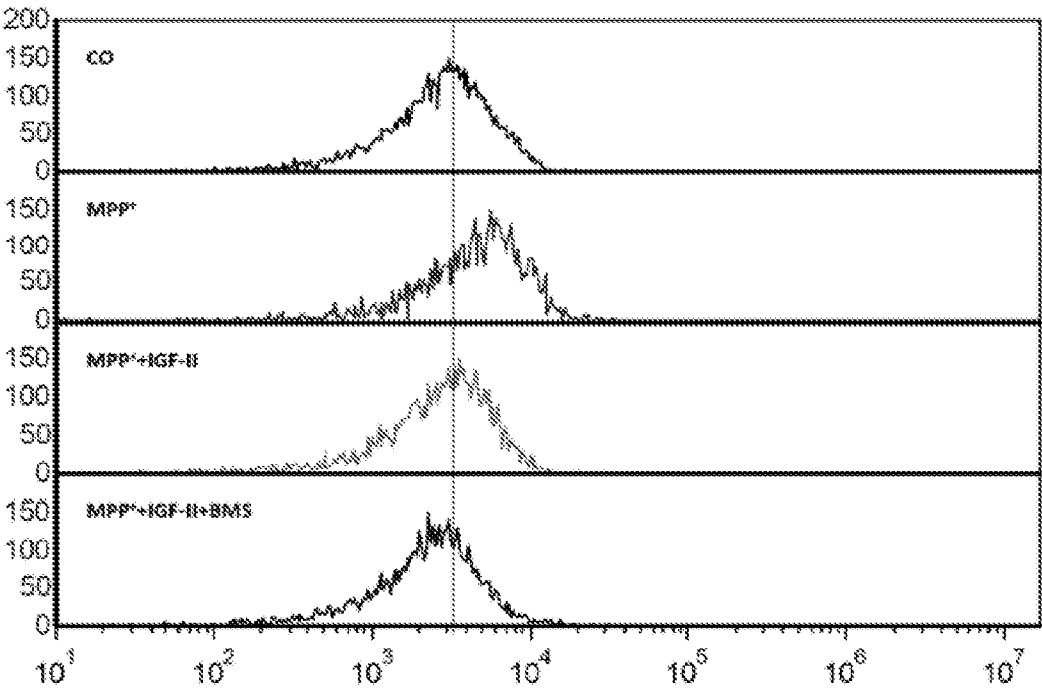


FIG. 8

SOD mitochondrial

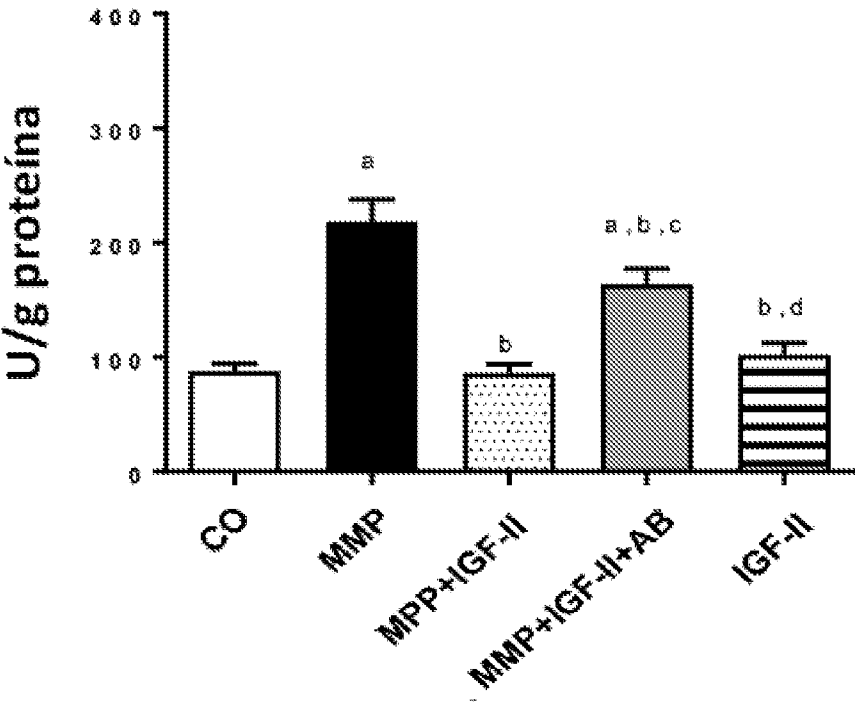


FIG. 9

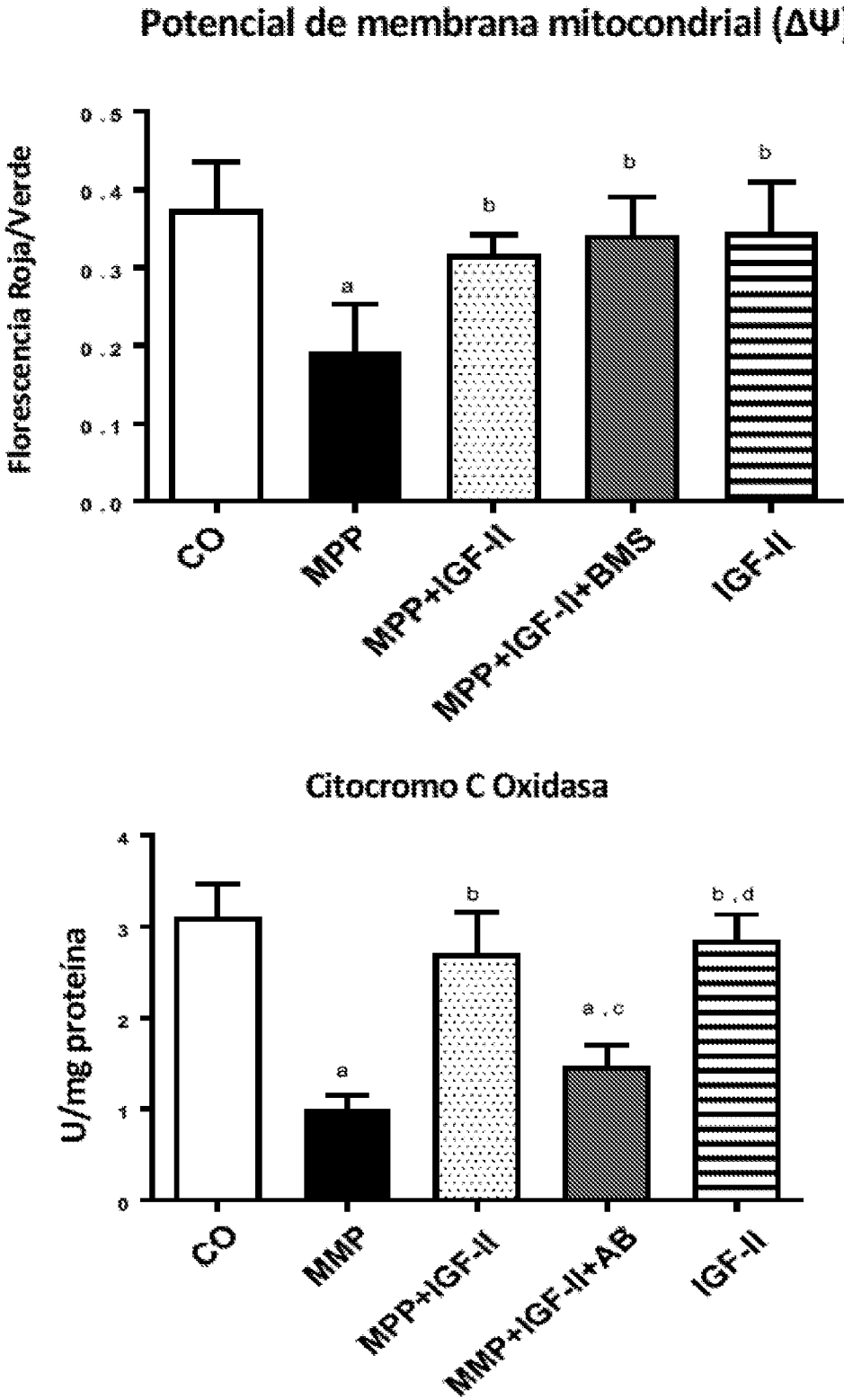


FIG. 10

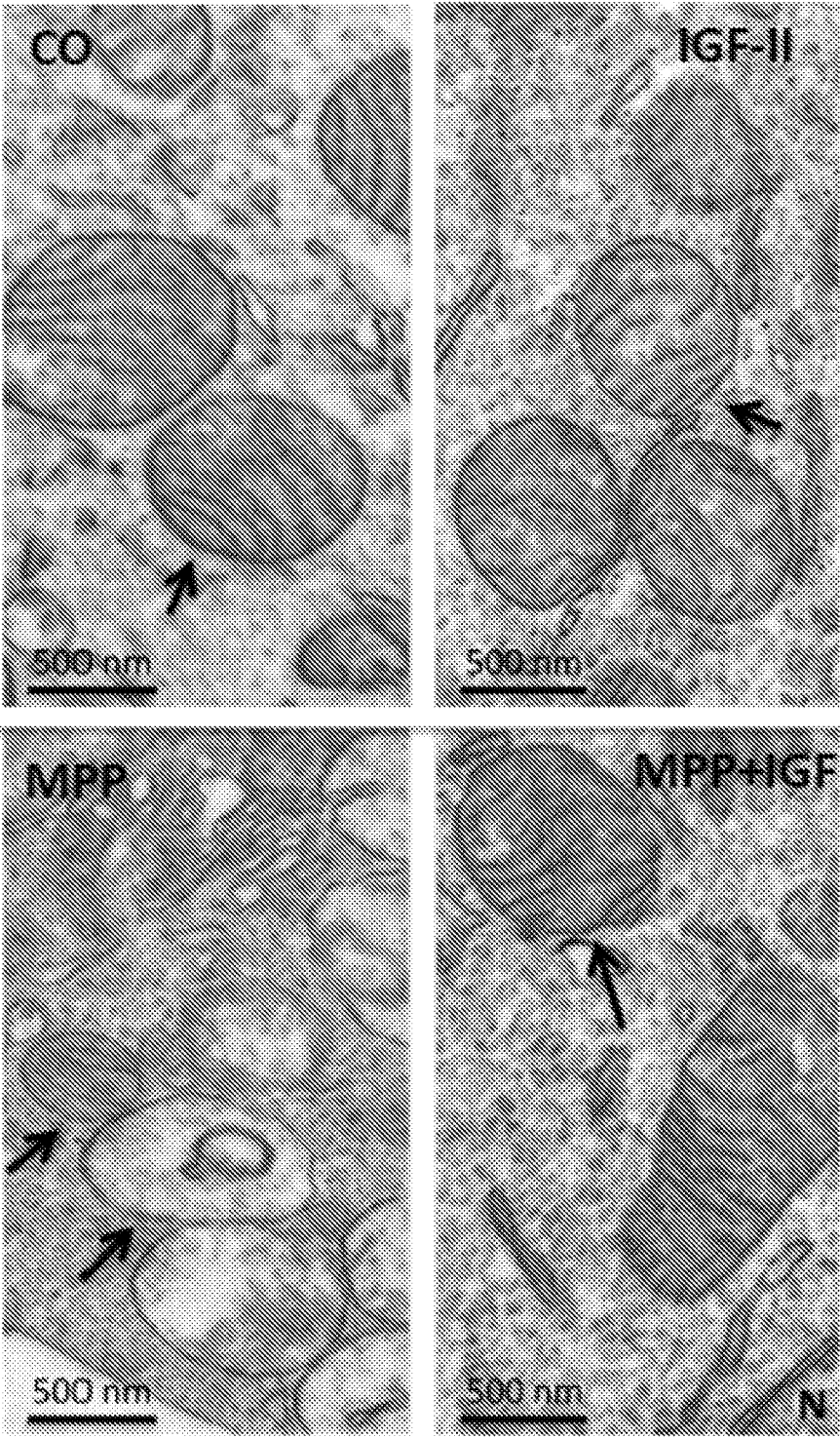


FIG. 11

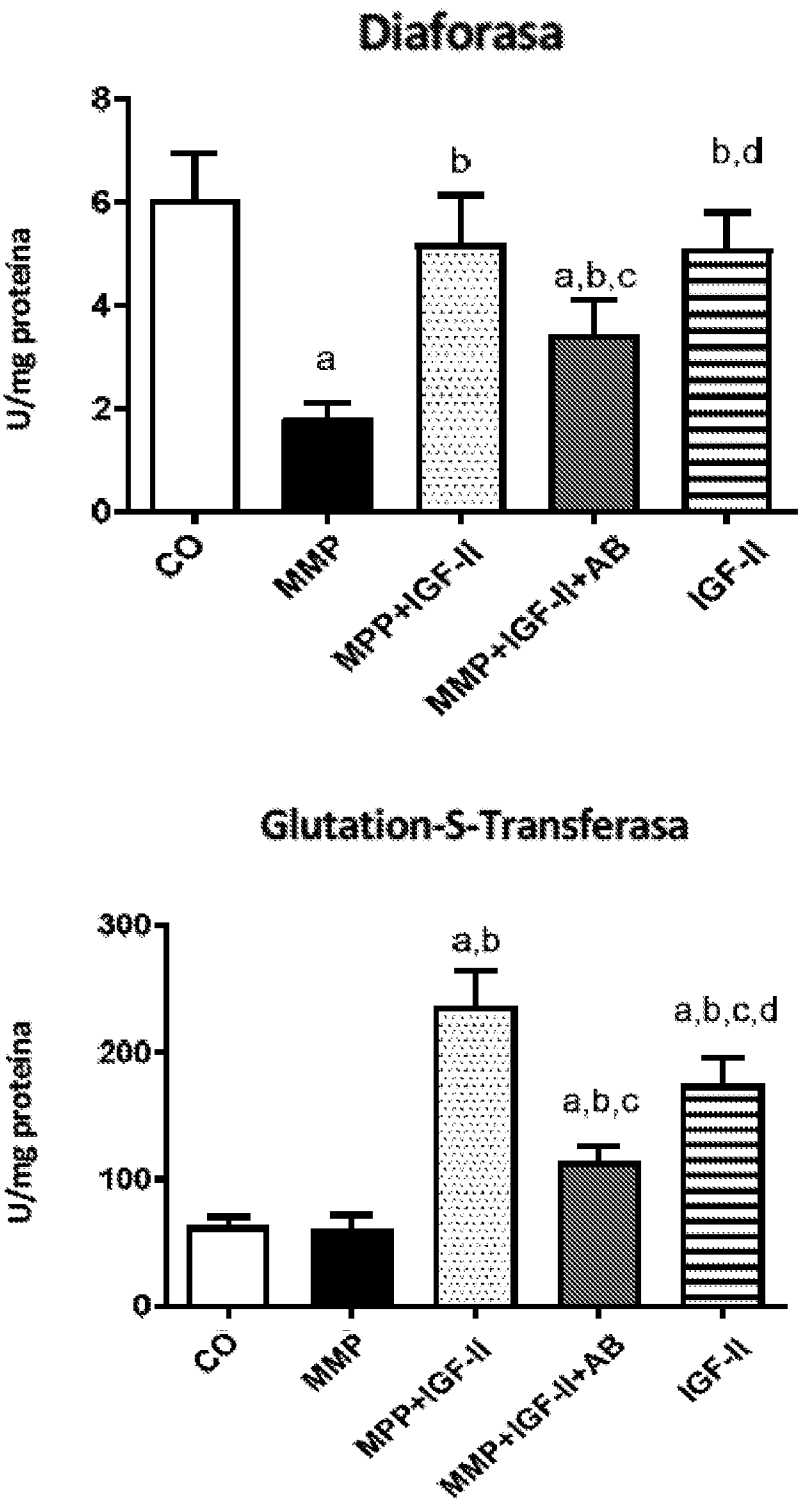


FIG. 12

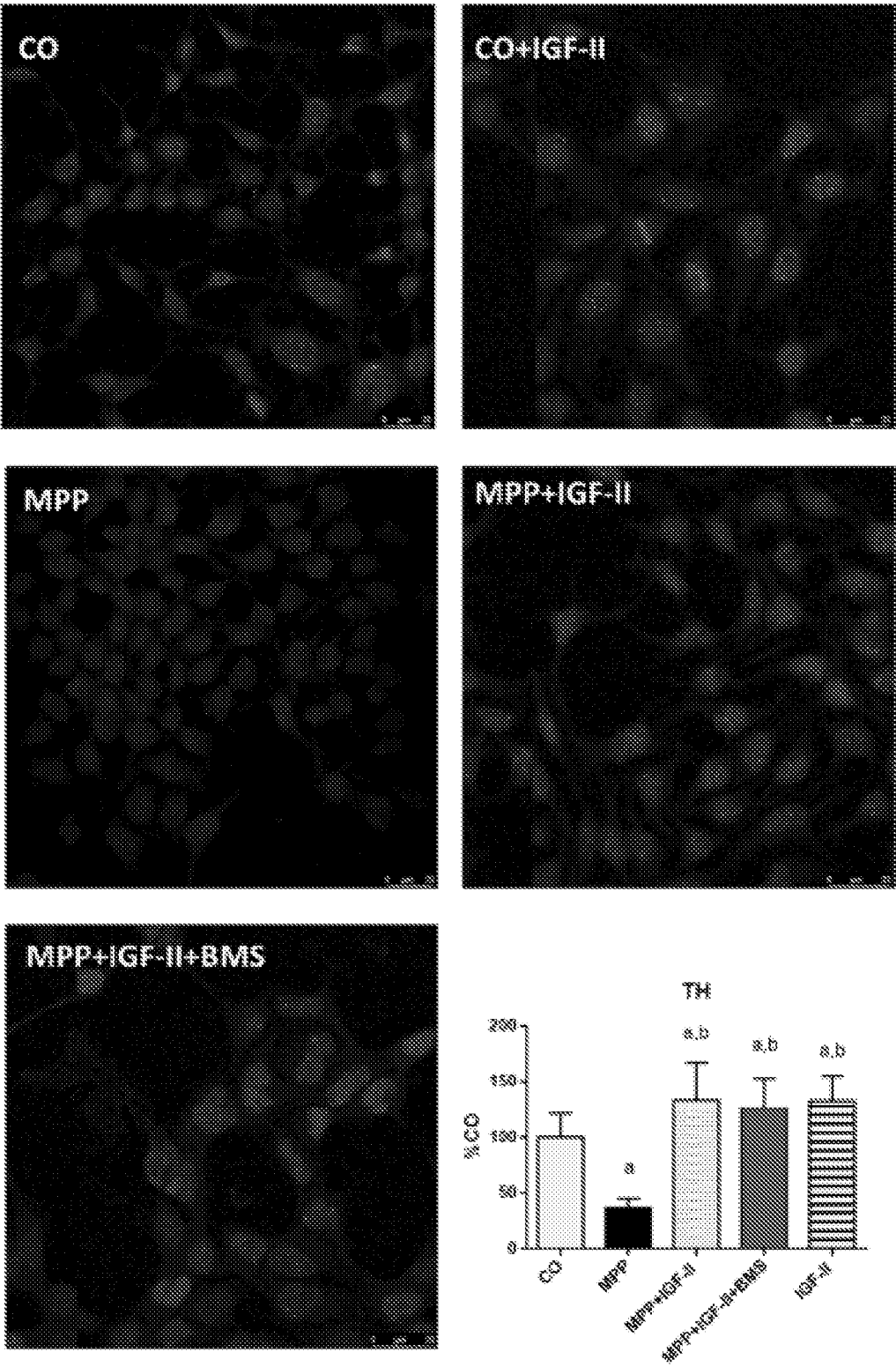
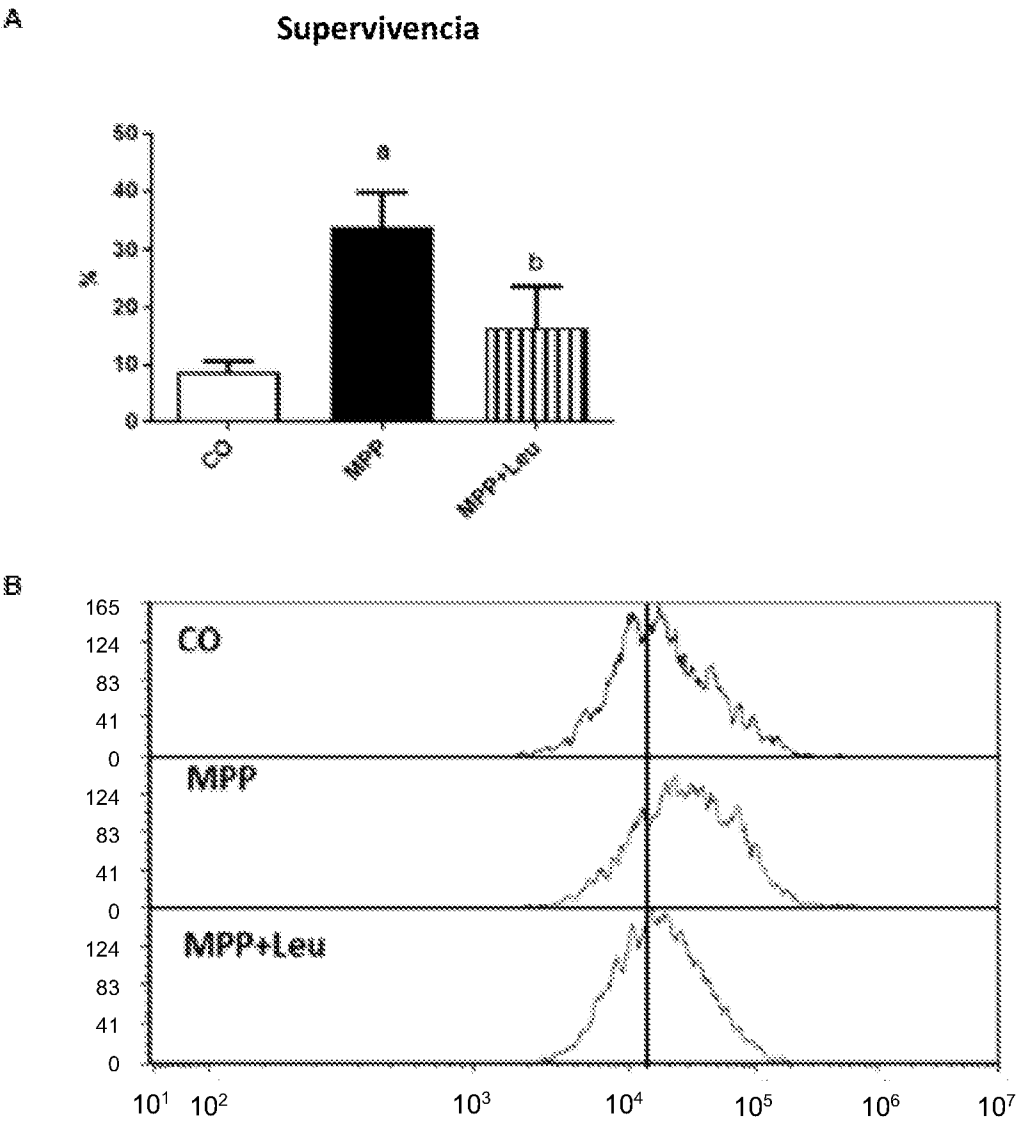
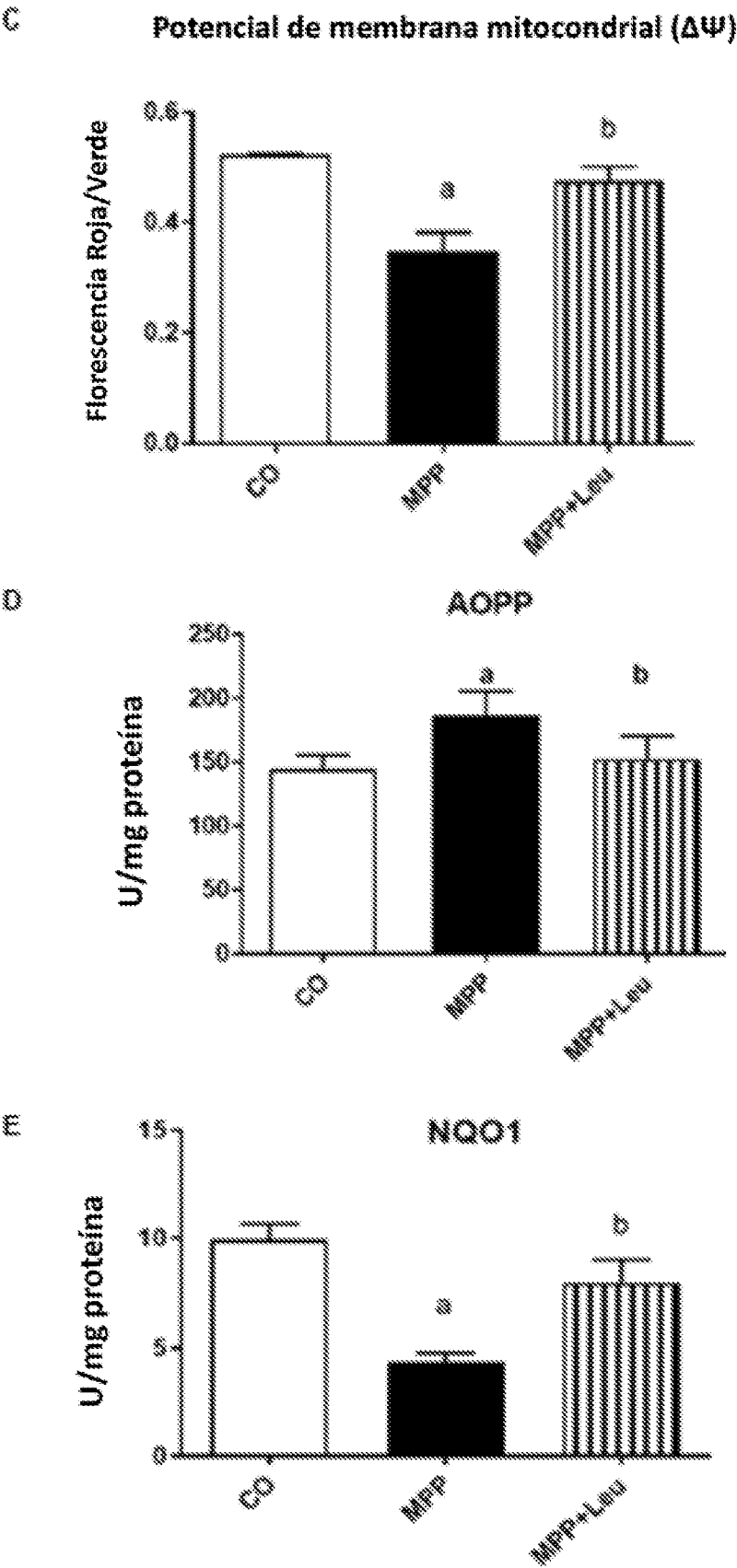


FIG. 13



**FIG. 14**



**FIG. 14 (cont)**

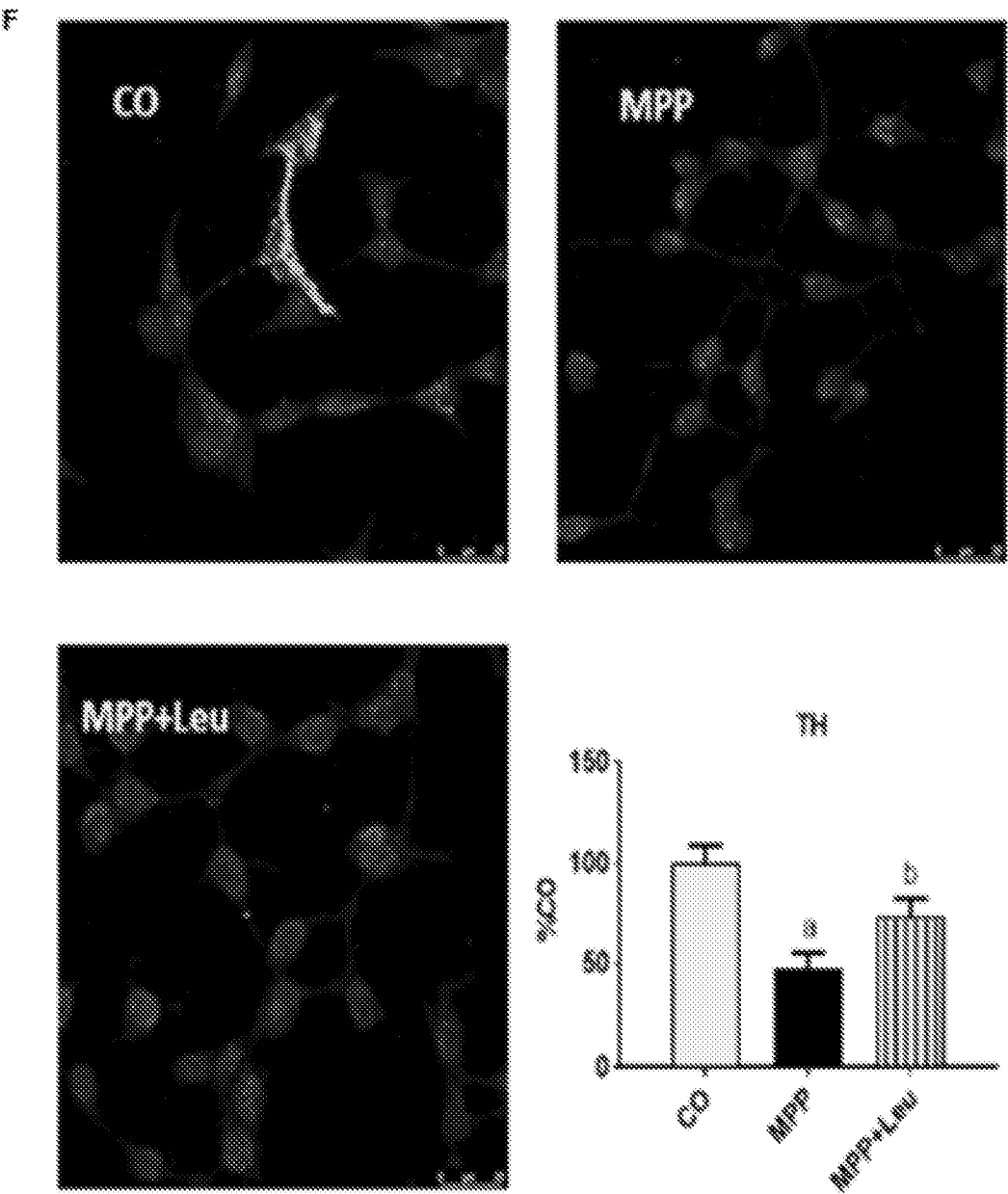


FIG. 14 (cont)

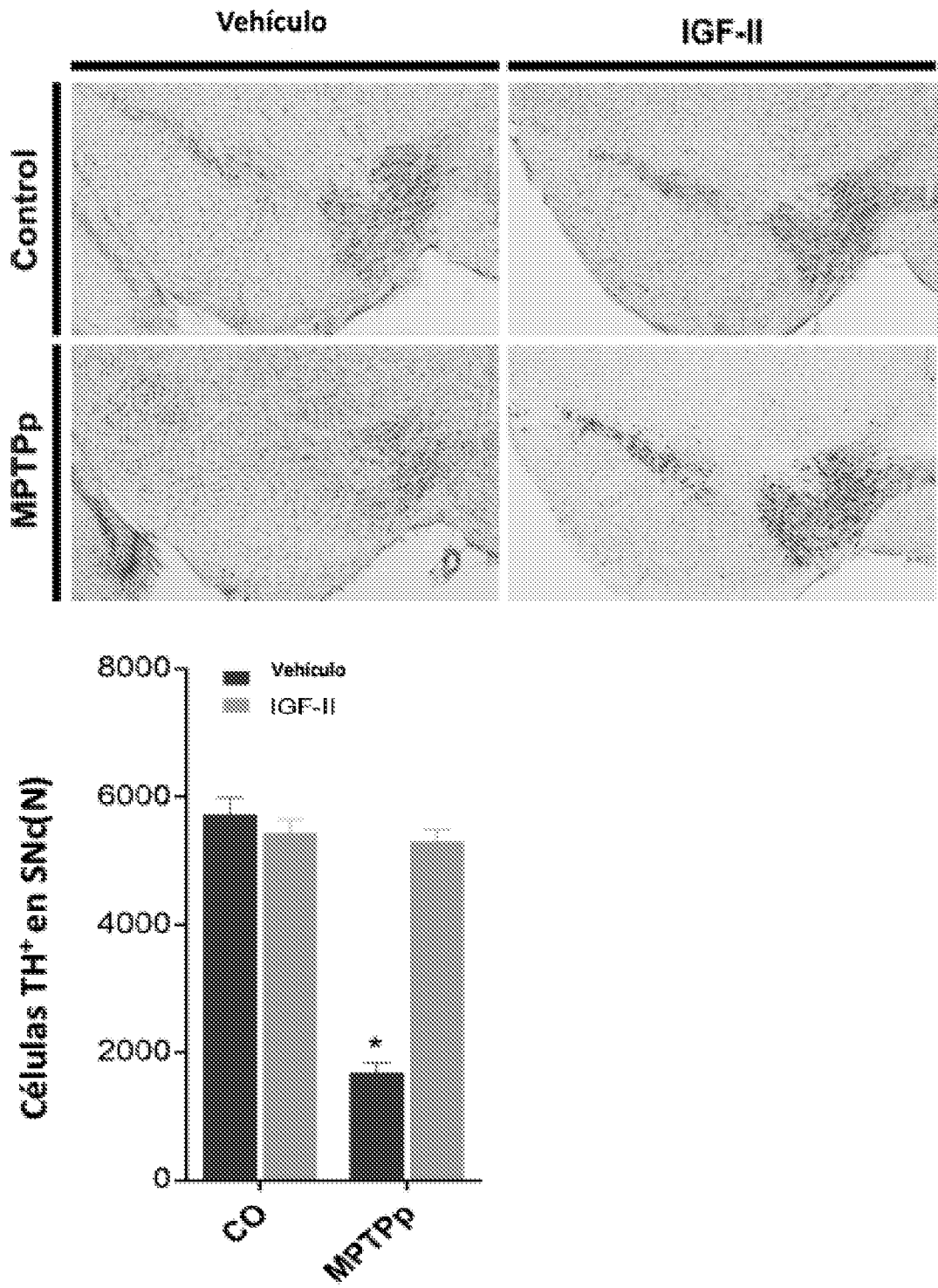


FIG. 15

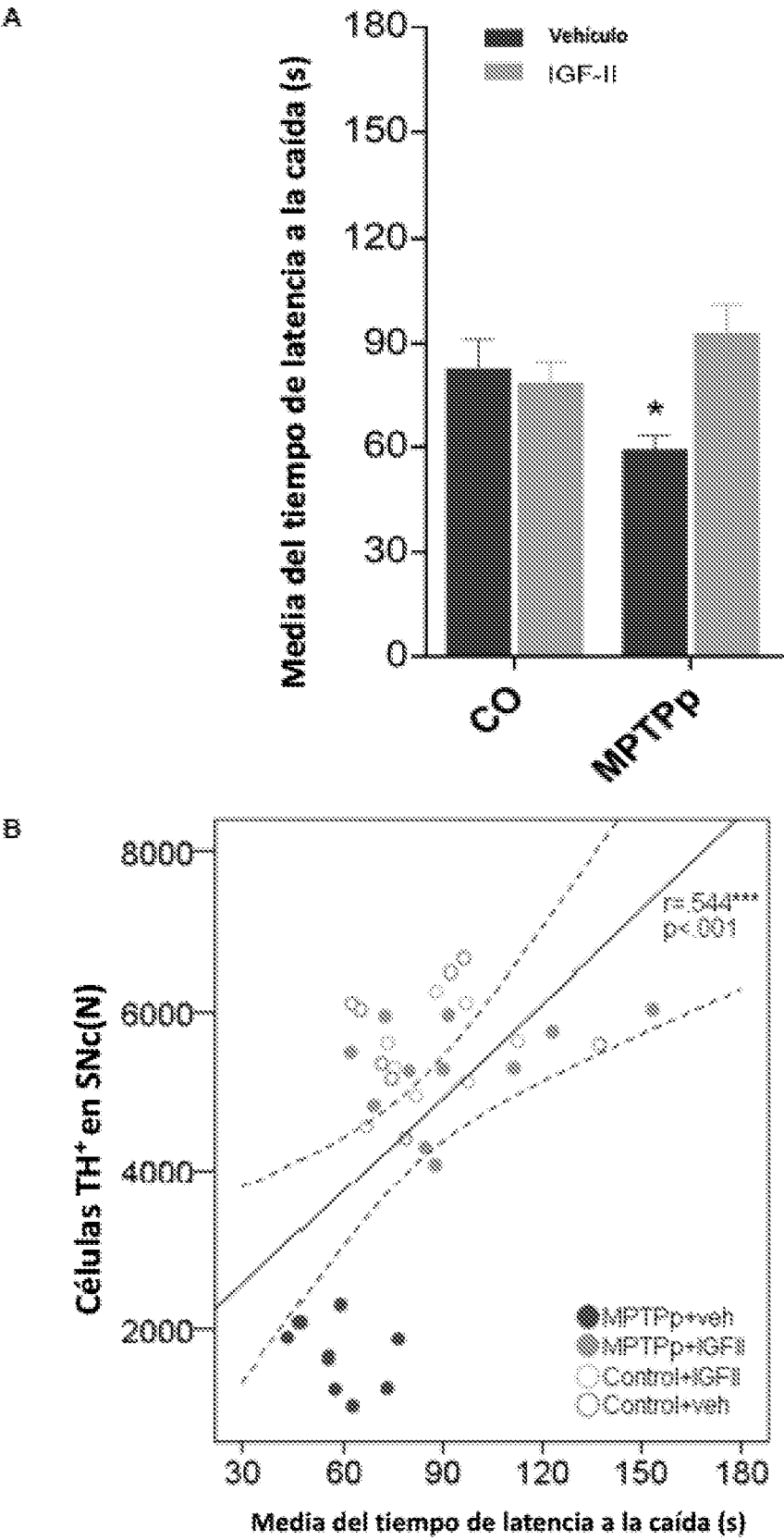


FIG. 16

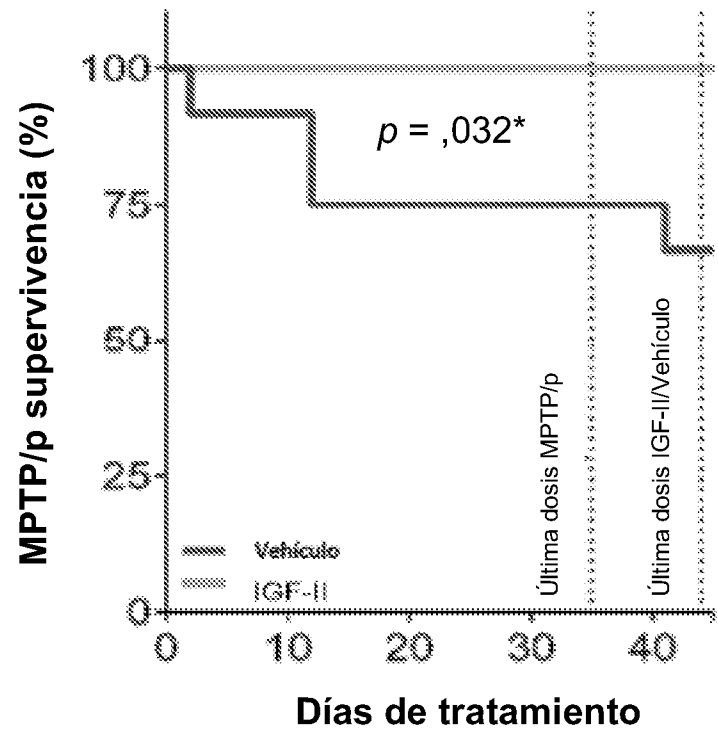


FIG. 17