



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 306 885**

51 Int. Cl.:  
**C07K 5/10** (2006.01)  
**C07K 14/70** (2006.01)  
**A61K 38/04** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03754322 .0**  
86 Fecha de presentación : **07.08.2003**  
87 Número de publicación de la solicitud: **1529057**  
87 Fecha de publicación de la solicitud: **11.05.2005**

54 Título: **Derivados de bifalina y sus aplicaciones analgésicas.**

30 Prioridad: **13.08.2002 PL 355470**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.11.2008**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.11.2008**

73 Titular/es: **Andrzej W. Lipkowski**  
**ul. Symfonii 4, m 47**  
**PL-02-786 Warszawa, PL**  
**Daniel Carr;**  
**Iwona Bonney;**  
**Dariusz Kosson y**  
**Aleksandra Misicka-Kesik**

72 Inventor/es: **Lipkowski, Andrzej W.;**  
**Carr, Daniel;**  
**Bonney, Iwona;**  
**Kosson, Dariusz y**  
**Misicka-Kesik, Aleksandra**

74 Agente: **Isern Jara, Jaime**

ES 2 306 885 T3

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

**DESCRIPCIÓN**

Derivados de bivalina y sus aplicaciones analgésicas.

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a la aplicación de péptidos con propiedades analgésicas como principios activos para usar en técnicas de aplicación directa de medicamentos en los supuestos sitios de actividad analgésica, en particular en el sistema nervioso central.

**10 Antecedentes de la invención**

El dolor y su alivio son algunos de los retos más importantes de la medicina moderna. Durante las últimas décadas se ha avanzado mucho en el diseño de medicamentos nuevos y procedimientos para su administración. Los procedimientos más populares de administración del medicamento a un paciente son el oral, tópico e intramuscular. Los analgésicos administrados de estas formas deben tener un grado alto de especificidad, así como propiedades farmacológicas que garanticen la penetración fácil de las barreras biológicas, tales como la barrera cutánea-aparato circulatorio, la barrera intestinal-sanguínea y la barrera hematoencefálica. Dichos compuestos se dispersan por todo el organismo después de su aplicación, incluyendo el sistema nervioso central, donde bloquean preferentemente la transmisión de estímulos de dolor a través de la médula espinal y la percepción de dolor en el cerebro. En los últimos años, el arsenal de técnicas de aplicación sistémica de analgésicos se ha enriquecido por procedimientos modernos de administración del medicamento directamente en aquellas estructuras en las que preferentemente se espera que actúen en los receptores participando en la supresión o generación de señales de dolor. El medicamento se puede introducir en forma de una solución salina fisiológica, usando una jeringuilla prolongada con un catéter introducido en el sitio de destino del medicamento. La jeringuilla se puede sustituir por una variedad de bombas de infusión que permiten la introducción constante del medicamento a lo largo del tiempo, y/o permiten que el médico y/o el paciente controlen la dosis de medicamento administrada. Las descripciones de las técnicas y dispositivos en cuestión se presentan en el trabajo de D.B. Carr y M.J. Cousins titulado "Spinal route of Analgesia. Opioids and future options", que es un capítulo de "Neuronal blockade in clinical anesthesia and management of pain" (ed. M.J. Cousins and P.O. Bridenbaugh), publicado por Lippincott-Raven Press, Philadelphia, 1998, pág. 915-983. El objetivo principal del medicamento analgésico son los receptores en el sistema nervioso central, en particular en la médula espinal. Sin embargo, en los últimos años, también se ha indicado la presencia de receptores que modulan los estímulos de dolor en sitios de daño tisular. Es por esto, que independientemente de la analgesia del sistema nervioso central, también se practica la aplicación local en los sitios postoperatorios. En todas estas técnicas modernas de aplicación de medicamento se usan preparaciones analgésicas tradicionales, tales como morfina o fentanilo. Dichos compuestos se caracterizan por una alta permeabilidad de las barreras biológicas, por lo que su eficacia en la aplicación local es limitada.

En 1986, se concedió a Andrzej W. Lipkowski la patente polaca n° 131730 para "A Method for the Production of Peptides with Morphine-like Activity". Esta patente también describe la síntesis de un compuesto con la estructura presentada en la Fig. 1. Este compuesto tiene el nombre común de bivalina. Las investigaciones con bivalina han mostrado que este compuesto tiene un nivel de actividad analgésica similar a la morfina cuando se introduce por vía intravenosa. Después de la administración directa en el sistema nervioso central, se observó actividad analgésica del compuesto, pero los investigadores interpretaron de diferentes formas el nivel de esta actividad.

El propósito de esta invención es suministrar nuevos compuestos que se podrían usar para obtener mejores agentes analgésicos, en particular para la administración local directa, y que al mismo tiempo mostrarían una alta actividad anestésica y carecerían de los efectos secundarios no deseados de los compuestos opiáceos, tales como la capacidad para causar depresión respiratoria.

Se mostró, inesperadamente que este problema se podía resolver mediante la presente invención.

**Resumen de la invención**

La presente invención se refiere a un compuesto seleccionado entre:

(Tyr-D-Ser-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>,

60 (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Leu-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>,

65 (Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Ala-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Ser-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Thr-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

5 (Tyr-D-Met-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

(Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

10 (Tyr-D-Gln-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>,

o

(Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>.

15

Esta invención también se refiere a un agente analgésico que contiene un principio activo y posiblemente un diluyente o carga farmacéuticamente aceptable, caracterizado porque como principio activo contiene un compuesto descrito antes. Un agente analgésico de acuerdo con esta invención también puede contener otro principio activo, en particular un compuesto seleccionado de los compuestos bloqueantes de receptores de aminoácidos estimuladores, 20 compuestos bloqueantes de receptores de taquiquinina, así como compuestos bloqueantes de receptores de colecistoquinina. En una realización particular, el agente analgésico de acuerdo con la presente invención es una solución en una solución acuosa salina fisiológica. El agente analgésico de acuerdo con la presente invención puede hacerse para la aplicación directa en el sitio en el que se desea la actividad analgésica, en particular como una aplicación constante o infusión. En una realización particular de la invención, dicho agente analgésico es para la aplicación directa en el 25 sitio adecuado del sistema nervioso central. La presente invención también se refiere al uso del compuesto definido antes de acuerdo con la presente invención, en la producción de un medicamento analgésico. En particular, para la producción del medicamento también se usa un compuesto seleccionado de compuestos bloqueantes de receptores de aminoácidos estimuladores, compuestos bloqueantes de receptores de taquiquinina, así como compuestos bloqueantes de receptores de colecistoquinina.

30

En los siguientes ejemplos se hace referencia a una breve descripción de los dibujos.

Para una ilustración mejor de la naturaleza de la presente invención, así como para facilitar su realización, la descripción se completa con las figuras. La fig. 1 presenta una fórmula para la bifalina. La fig. 2 presenta una fórmula 35 general de análogos de bifalina de acuerdo con la presente invención con algunos ejemplos ilustrativos.

### Descripción detallada de la invención

40 Cuando se administró estrictamente en el sitio de control, se mostró inesperadamente que la bifalina administrada por vía intratecal era aproximadamente mil veces más eficaz como analgésico que la morfina, que se usó como compuesto de referencia. También se observó que los análogos de bifalina con las secuencias listadas en la Tabla 1 presentaban actividades analgésicas fuertes comparables a la bifalina. También se mostró inesperadamente que la 45 bifalina y sus análogos administrados con dosificaciones extremadamente altas, tales como hasta mil veces la dosis analgésica mínima eficaz, no producían depresión respiratoria, que es un efecto indeseable significativo de la morfina y de otros analgésicos actualmente usados. Las propiedades biológicas de la bifalina y sus análogos, tales como su actividad anestésica, así como un amplio margen de seguridad, así como la baja permeabilidad a través de las barreras biológicas, predispone a estos compuestos para su uso como principios activos en dispositivos para la aplicación de 50 compuestos biológicamente activos directamente en el sitio en el que se espera su actividad en el sistema nervioso central.

La aplicación de péptidos con actividad analgésica como principio activo en dispositivos para la aplicación de compuestos biológicamente activos directamente en el sitio en el que se espera su actividad analgésica de acuerdo con la presente invención, consiste en una solución de bifalina o su análogo, o estos compuestos junto con antagonistas de 55 la taquiquinina o antagonistas de la colecistoquinina o antagonistas de aminoácidos estimuladores, que son la carga de un dispositivo para la administración de un medicamento directamente en el sitio en el que se espera su actividad analgésica, incluyendo el espacio intratecal de animales preferiblemente mamíferos o seres humanos, en los que los dispositivos pueden ser una jeringuilla diseñada para inyección epidural, u otro dispositivo automático de suministro de medicamento al sistema nervioso central o uno en el que el paciente y/o servicio médico puedan controlar la 60 dosificación.

La siguiente tabla presenta las secuencias de péptidos seleccionados de acuerdo con la presente invención, que se describen con detalle en los siguientes ejemplos.

65

# ES 2 306 885 T3

TABLA I

Secuencias de aminoácidos de los péptidos estudiados, cuya actividad anestésica con una dosis de 0,05 microgramos era mayor que 50% del MEP (máximo efecto posible) después de 15 minutos después de la administración, cuando se daban por vía intratecal a una rata.

1. (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub> (ilustrativa)
2. (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>
3. (Tyr-D-Thr-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub> (ilustrativa)
4. (Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>
5. (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>
6. (Tyr-D-Leu-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>
7. (Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>
8. (Tyr-D-Ala-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
9. (Tyr-D-Ser-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
10. (Tyr-D-Thr-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
11. (Tyr-D-Met-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
12. (Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
13. (Tyr-D-Gln-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub>
14. (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub>

en las que los restos de aminoácidos individuales están marcados por los códigos de tres letras: Tyr indica L-tirosina, D-Ala indica D-alanina, D-Ser indica D-serina, D-Thr indica D-treonina, D-Met indica D-metionina, D-Asn indica D-asparagina, D-Gln indica D-glutamina, Gly indica glicina, Phe indica L-fenilalanina.

Una solución de bifalina o su análogo de acuerdo con la presente invención puede ser una solución en una solución salina fisiológica, que contiene o no contiene sustancias adicionales que potencian la actividad analgésica. Entre las sustancias que potencian la actividad analgésica de la bifalina de acuerdo con la presente invención, se pueden incluir antagonistas de NMDA y/o antagonistas de taquiquinina y/o antagonistas de colecistoquinina.

Los siguientes ejemplos ilustrarán mejor la invención.

## Ejemplo I

Se introdujo un catéter de silicona en el espacio intratecal de una rata en la región cervical de la médula espinal, que tenía un diámetro exterior de 0,64 mm y un diámetro interior de 0,3 mm. El catéter de 12 cm de longitud se preparó de la siguiente forma: a una distancia de 7,5 cm del extremo del catéter, se hizo un reborde alrededor del mismo con pegamento de silicona blanda. El tramo restante de 4,5 cm del catéter se extendía al exterior y se conectó a una aguja de 30G montada en una jeringuilla Hamilton de 25 microlitros. La implantación del catéter se hizo con anestesia general. Después de afeitar el pelaje de los hombros y cuello, la rata se puso en un aparato estereotáctico. La incisión de 1,5 cm de largo se hizo de forma central, de delante hacia la parte trasera, a lo largo del eje de la médula espinal. Después de alcanzar los músculos, se separaron y se preparó el acceso a la membrana basal. Se hizo una incisión en la membrana basal. El catéter preparado, cargado con una solución salina fisiológica estéril, se insertó a través de la incisión en la membrana a una profundidad de 7,5 cm hacia la parte trasera, de modo que su extremo se encontraba localizado en L1. Se suturaron el músculo y la piel. Después de recuperarse de la anestesia general, las ratas se pusieron en jaulas separadas. Se administró bifalina y se hicieron las mediciones durante el segundo día después de la operación. Todas las inyecciones epidurales se hicieron con un volumen constante de 10 microlitros. Después de inyección, el catéter se aclaró con 15 microlitros de solución salina fisiológica estéril. La analgesia se midió en relación con un ensayo de retracción de la cola, en el que se aplicó un estímulo térmico en forma de un haz de luz con una temperatura de 55°C. La temperatura y el foco de luz eran tales que el tiempo de reacción de la rata estaba dentro del margen de 2-3 segundos. El tiempo máximo que la cola se agitaba con la luz estimuladora de dolor se estableció como 7 segundos, para no producir quemaduras en la cola relacionadas con una exposición prolongada de los tejidos a la temperatura. Se determinó el umbral de estímulo de la estimulación de dolor antes de la administración de los compuestos, así como

## ES 2 306 885 T3

5, 15, 30, 60 y 120 minutos después de la administración. El grado de analgesia se expresó como un porcentaje del máximo efecto posible (indicado como % del MEP) de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ del MEP} = \frac{T(5 - 120) - T(0)}{7 - T(0)} \times 100$$

en la que T(0) es el tiempo de reacción antes de administrar el compuesto; T(5-120) es el tiempo de reacción en el intervalo adecuado y 7 es una constante de tiempo.

Después del procedimiento, la localización del catéter y la extensión de su alcance se determinaron usando radiografía de la médula espinal después de una inyección de solución de acetato de plomo. El análisis se realizó sólo en los animales con el catéter insertado correctamente.

La actividad analgésica de la bialina se observó con una dosis mínima de 0,005 microgramos. El efecto anestésico era 68% del MEP en el 5° minuto, creciendo a 74% del MEP en el 15° minuto, para disminuir lentamente a 30% del MEP en el 30° minuto. Después de una hora, la sensibilidad al estímulo térmico volvió a la normalidad.

### Ejemplo II

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que la dosis se ajustó a 0,5 microgramos de bialina. El efecto anestésico obtenido era respectivamente 90% del MEP 5 minutos después de la administración, 98% del MEP 15 minutos después de la administración, 100% del MEP 30 minutos después de la administración, 70% 1 hora después de la administración y 27% del MEP dos minutos después de la administración. No se observaron efectos indeseados.

### Ejemplo III

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que los principios activos eran bialina, con una dosis de 0,005 microgramos así como ketamina con una dosis de 100 microgramos. El efecto anestésico obtenido fue respectivamente 100% del MEP después de 5 minutos, 100% del MEP después de 15 minutos, 98% del MEP después de 30 minutos, 52% del MEP después de 1 hora y 8% del MEP después de 2 horas después de la administración de los compuestos. No se observaron efectos indeseados.

### Ejemplo IV

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que la sustancia activa era un análogo de bialina (Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub> con una dosis de 0,05 microgramos. El efecto anestésico obtenido fue respectivamente 100% del MEP después de 5 minutos, 78% del MEP después de 15 minutos, 41% después de 30 minutos y 10% del MEP después de 1 hora después de la administración de los principios activos. No se observaron efectos indeseados.

### Ejemplo V

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que el principio activo era el análogo de bialina (Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub> con una dosis de 0,05 microgramos. El efecto anestésico obtenido fue respectivamente 100% del MEP después de 5 minutos, 68% del MEP después de 15 minutos, 50% después de 30 minutos y 18% del MEP después de 1 hora después de la administración de los principios activos. No se observaron efectos indeseados.

### Ejemplo VI

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que el principio activo era un análogo de bialina (Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)<sub>2</sub> con una dosis de 0,05 microgramos. El efecto anestésico obtenido fue respectivamente 100% del MEP después de 5 minutos, 98% del MEP después de 15 minutos, 80% después de 30 minutos y 42% del MEP después de 1 hora después de la administración de los principios activos. No se observaron efectos indeseados.

### Ejemplo VII

El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que el principio activo era un análogo de bialina (Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)<sub>2</sub> con una dosis de 0,05 microgramos. El efecto anestésico obtenido fue respectivamente 100% del MEP después de 5 minutos, 100% del MEP después de 15 minutos, 62% después de 30 minutos y 30% del MEP después de 1 hora después de la administración de los principios activos. No se observaron efectos indeseados.

Ejemplo VIII

5 El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que la dosis que se estudió fue de 25 microgramos de bivalina. Después de 3 minutos después de la inyección se observó rigidez de los músculos de las extremidades y el dorso, mientras que se mantenía la capacidad respiratoria. La rigidez se mantuvo durante 4 horas, y durante las 3 horas siguientes el animal no reaccionó a ningún estímulo de dolor. Después de otras 2 horas, el efecto anestésico descrito en el estudio en el Ejemplo I fue 80% del MEP. Después de 12 horas la respuesta al dolor y el comportamiento del animal eran normales.

10 Ejemplo IX

15 El experimento se llevó a cabo en condiciones idénticas al Ejemplo I, excepto que después de una sola administración de 0,005 microgramos de bivalina, se administraron 0,003 microgramos de bivalina después de 0,5 horas, y se continuó la administración de 0,003 gramos de bivalina cada media hora, durante 8 horas. Se midió la anestesia en intervalos de 1 hora. Se observó que el efecto anestésico se mantenía a lo largo de la duración del experimento a un nivel de 80% del MEP. No se observaron efectos indeseados.

20 **Referencias citadas en la descripción**

*Esta lista de referencias citadas por el autor de la solicitud es sólo para la conveniencia del lector. No forma parte del documento de patente europea. Aunque se ha tenido mucho cuidado al recopilar las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO rechaza cualquier responsabilidad en este aspecto.*

25 **Documentos de patente citados en la descripción**

- PL 131730, Andrzej W. Lipkowski [0003]

30 **Bibliografía de no patentes citada en la descripción**

• D.B. CARR; M.J. COUSINS. Spinal route of Analgesia. Opioids and future options. *Neuronal blockade in clinical anesthesia and management of pain*, 1998, 915-983 [0002].

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es un péptido seleccionado de:

- 5 (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)₂  
10 (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Leu-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)₂  
15 (Tyr-D-Ala-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Ser-Gly-Trp-NH-)₂  
20 (Tyr-D-Thr-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Met-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)₂  
25 (Tyr-D-Gln-Gly-Trp-NH-)₂  
o  
30 (Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)₂.

2. Un medicamento analgésico que contiene un principio activo y posiblemente un vehículo y/o excipiente farmacológicamente aceptable, **caracterizado** porque el principio activo es un péptido seleccionado de:

- 35 (Tyr-D-Ser-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Met-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)₂  
40 (Tyr-D-Leu-Gly-Phe-NH-)₂  
(Tyr-D-Gln-Gly-Phe-NH-)₂  
45 (Tyr-D-Ala-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Ser-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Thr-Gly-Trp-NH-)₂  
50 (Tyr- D-Met-Gly-Trp-NH-)₂  
(Tyr-D-Leu-Gly-Trp-NH-)₂  
55 (Tyr-D-Gln-Gly-Trp-NH-)₂  
o  
(Tyr-D-Asn-Gly-Phe-NH-)₂.

60 3. Un medicamento analgésico de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque contiene adicionalmente otro principio activo, en particular un compuesto seleccionado de compuestos bloqueantes de receptores de aminoácidos estimuladores, compuestos bloqueantes de receptores de taquiquinina, así como compuestos bloqueantes de receptores de colecistoquinina.

65 4. Un medicamento analgésico de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque está en forma de una solución en una solución acuosa salina fisiológica.

## ES 2 306 885 T3

5. Un medicamento analgésico de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque está diseñado para la aplicación directa en el sitio en el que se desea la actividad analgésica, en particular mediante la liberación constante o infusión periódica.

5 6. Un medicamento analgésico de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado** porque está diseñado para la aplicación directa en un sitio adecuado del sistema nervioso central.

7. Uso del compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, para producir un medicamento analgésico.

10 8. Uso de acuerdo con la reivindicación 7, **caracterizado** porque con el fin de producir el medicamento se usa adicionalmente un compuesto seleccionado de compuestos bloqueantes de receptores de aminoácidos estimuladores, compuestos bloqueantes de receptores de taquiquinina, así como compuestos bloqueantes de receptores de colecistoquinina.

15

20

25

30

35

40

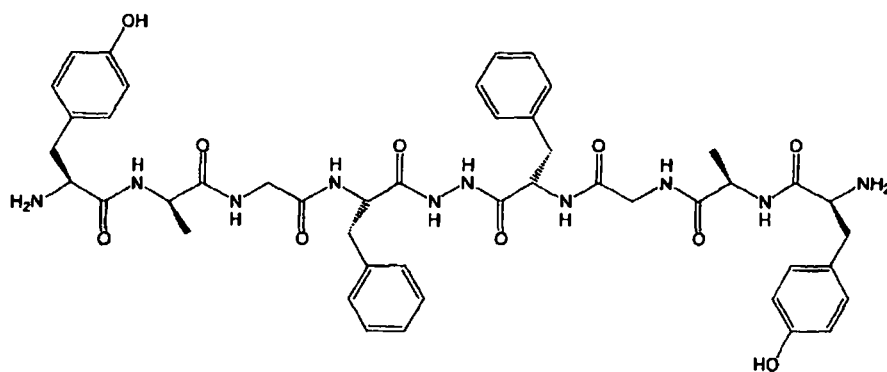
45

50

55

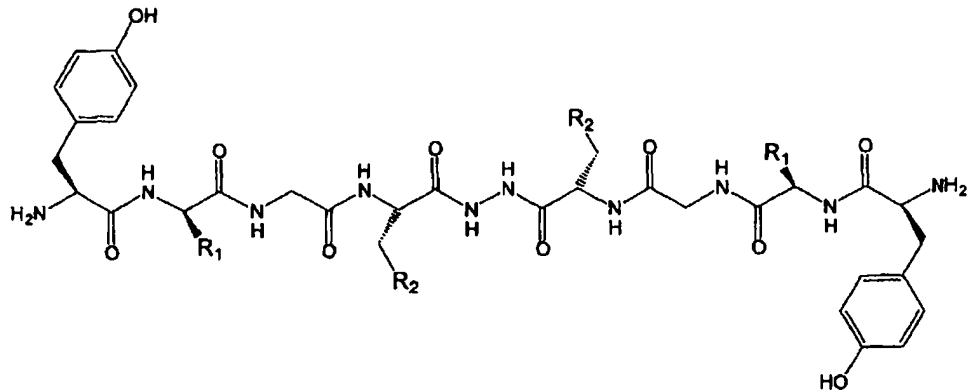
60

65



**Fig. 1**  
(Ilustrativa)

[“Ilustrativo” es manuscrito]



R<sub>1</sub> = D-Ala o D-Ser o D-Thr o D-Met o D-Leu o D-Asn o D-Gln

R<sub>2</sub> = Phe o Trp

Los casos en los que R<sub>1</sub> = D-Ala o D-Thr y R<sub>2</sub> = Phe son ilustrativos

**Fig. 2**

[El texto anterior es manuscrito desde "Los casos..."]