



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 314 193**

51 Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

A61P 25/22 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03718383 .7**

96 Fecha de presentación : **11.04.2003**

97 Número de publicación de la solicitud: **1503790**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **09.02.2005**

54

Título: **Tratamiento intracraneal de trastornos neuropsiquiátricos mediante neurotoxinas clostrídicas tales como toxina botulínica.**

30

Prioridad: **10.05.2002 US 143078**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.03.2009

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.03.2009

73

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

72

Inventor/es: **Donovan, Stephen**

74

Agente: **Arias Sanz, Juan**

ES 2 314 193 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

Tratamiento intracraneal de trastornos neuropsiquiátricos mediante neurotoxinas clostrídicas tales como toxina botulínica.

5

Antecedentes

La presente invención se refiere a una neurotoxina clostrídica y una toxina botulínica, respectivamente, para uso en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos. En concreto, la presente invención se refiere a dichas toxinas para uso en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos mediante la administración intracraneal de dichas neurotoxinas.

10

Trastornos neuropsiquiátricos

Un trastorno neuropsiquiátrico es una perturbación neurológica que se etiqueta normalmente respecto de cuál de las cuatro facultades mentales esté afectada. Por ejemplo, un grupo incluye trastornos del pensamiento y la cognición, tales como esquizofrenia y delirio; un segundo grupo incluye trastornos del humor, tales como trastornos afectivos y ansiedad, un tercer grupo incluye trastornos del comportamiento social, tales como defectos de carácter y trastornos de personalidad; y un cuarto grupo incluye trastornos del aprendizaje, memoria, e inteligencia, tales como retraso mental y demencia. Según esto, los trastornos neuropsiquiátricos abarcan esquizofrenia, delirio, enfermedad de Alzheimer, depresión, manía, trastornos de déficit de atención, adicción a fármacos, agitación, apatía, ansiedad, psicosis, trastornos de estrés post-traumático, irritabilidad, y desinhibición.

15

20

Esquizofrenia

La esquizofrenia es un trastorno que afecta aproximadamente a un uno por ciento de la población mundial. Los tres síntomas generales de la esquizofrenia se denominan a menudo síntomas positivos, síntomas negativos, y síntomas desorganizados. Los síntomas positivos pueden incluir delirios (creencias anormales), alucinaciones (percepciones anormales), y pensamiento desorganizado. Las alucinaciones pueden ser auditivas, visuales, olfatorias, o táctiles. El pensamiento desorganizado puede manifestarse por sí mismo en los pacientes esquizofrénicos por el habla inconexa y la incapacidad de mantener procesos de pensamiento lógicos. Los síntomas negativos pueden representar la ausencia de comportamiento normal. Los síntomas negativos incluyen monotonía emocional o ausencia de expresión y pueden caracterizarse por retraimiento social, energía reducida, motivación reducida, y actividad reducida. Puede también asociarse la catatonía con los síntomas negativos de la esquizofrenia. Para que un paciente sea diagnosticado como esquizofrénico, los síntomas de la esquizofrenia deberían persistir continuamente durante un periodo de aproximadamente seis meses. Basándose en los tipos de síntomas que presenta un paciente, la esquizofrenia puede clasificarse en subtipos que incluyen esquizofrenia catatónica, esquizofrenia paranoide, y esquizofrenia desorganizada.

25

30

35

Los cerebros de los pacientes esquizofrénicos se caracterizan a menudo por ventrículos laterales ampliados, que pueden estar asociados con una reducción del hipocampo y un aumento en el tamaño de los ganglios basales. Los pacientes esquizofrénicos pueden tener también terceros ventrículos ampliados y una ampliación del surco. Estas caracterizaciones anatómicas apuntan a una reducción del tejido cortical.

40

Aunque no se conoce con precisión el origen de la esquizofrenia, existen diversas hipótesis con respecto a las causas. Una hipótesis es que la esquizofrenia está asociada con un aumento en la actividad de la dopamina en el interior de las zonas corticales y límbicas del cerebro. La hipótesis se apoya en los efectos terapéuticos conseguidos por los fármacos antipsicóticos que bloquean algunos receptores de la dopamina. Adicionalmente, el uso de anfetaminas puede asociarse con síntomas psicóticos similares a la esquizofrenia; las anfetaminas actúan sobre los receptores de la dopamina.

45

Los ejemplos de fármacos antipsicóticos que se pueden usar para tratar a los pacientes esquizofrénicos incluyen fenotizinas, tales como clorpromazina y trifluopromazina; tioxantenos, tales como clorprotixeno; flufenazina; butirofenonas, tales como haloperidol; loxapina; mesoridazina; molindone; quetapina; thiothixene; trifluoperazine; perphenazine; tioridazina; risperidona; dibenzodiazepinas, tales como clozapina; y olanzapina. Aunque estos agentes pueden aliviar los síntomas de la esquizofrenia, su administración puede dar también como resultado efectos secundarios indeseables que incluyen síntomas similares a la enfermedad de Parkinson (temblor, rigidez muscular, pérdida de expresión facial); distonía; agitación; disquinesia tardía; aumento de peso; problemas de la piel; sequedad de boca; estreñimiento; visión borrosa; somnolencia; habla mal articulada; agranulocitosis.

50

55

Se cree que los fármacos antipsicóticos actúan principalmente sobre los receptores de la dopamina con una afinidad particular por los receptores D₂, D₃ y D₄. Se cree que los receptores D₃ y D₄ pueden tener una afinidad mayor por algunos antipsicóticos, tales como clozapina, en comparación con los demás. Los cerebros de los pacientes esquizofrénicos parecen tener un número mayor de receptores D₂ en el núcleo caudado, el núcleo accumbens (estriado ventral), y el tubérculo olfatorio.

60

Las neuronas de dopamina pueden organizarse en cuatro subsistemas principales: el sistema tuberoinfundibular; el sistema nigrostriatal; el sistema mesolímbico; y el sistema mesocortical. El sistema dopaminérgico tuberoinfundibular se origina en cuerpos celulares del núcleo arcuado del hipotálamo y se proyecta hacia el tallo hipofisiario. Este sistema puede estar implicado en las anomalías neuroendocrinas secundarias de la esquizofrenia. El sistema dopaminérgico

65

ES 2 314 193 T3

co nigrostriatal se origina en la sustancia negra y se proyecta principalmente hacia el putamen y el núcleo caudado. El sistema dopaminérgico mesolímbico se origina en el área tegmental ventral y se proyecta hacia el componente mesial del sistema límbico, que incluye el núcleo accumbens, los núcleos de las estriás terminales, partes de la amígdala e hipocampo, los núcleos septales laterales, y córtex mesial frontal, el cíngulo anterior, y el entorrinal. El núcleo accumbens es un lugar de convergencia entre la amígdala, el hipocampo, el área entorrinal, el área cíngulada anterior, y partes del lóbulo temporal. De esta manera, la proyección dopaminérgica mesolímbica puede modular y transformar la información transmitida desde el núcleo accumbens al septo, hipotálamo, área cíngulada anterior, y lóbulos frontales, y la modulación hiperactiva de la producción del núcleo accumbens a estas áreas puede contribuir a los síntomas positivos asociados con esquizofrenia. El sistema dopaminérgico mesocortical se origina en el área tegmental ventral y se proyecta hacia el neocórtex y en gran medida hacia el córtex prefrontal. Este componente puede ser importante en los síntomas negativos de la esquizofrenia.

El área tegmental ventral, que es la fuente de origen de la entrada dopaminérgica hacia el núcleo accumbens, recibe una entrada colinérgica desde los núcleos pedúnculo pontinos del tronco encefálico. El núcleo pedúnculo pontino proporciona una entrada colinérgica excitadora en el área tegmental ventral (Clarke y col.; *Innervation of substantia nigra neurons by cholinergic afferents from the pedunculo pontine nucleus in the rat. Neuroanatomical and electrophysiological evidence, Neuroscience*, 23:1011-1019, 1987). Se ha informado de que los pacientes esquizofrénicos tienen un número mayor de neuronas colinérgicas en los núcleos pedúnculo pontinos (García-Rill y col., *Mesopontine neurons in schizophrenia, Neuroscience*, 66(2):321-335, 1995). Sin embargo, estos resultados no se confirmaron en un estudio (German y col., *Mesopontine cholinergic and non-cholinergic neurons in schizophrenia, Neuroscience*, 94(1):33-38, 1999).

Manía

La manía es una forma mantenida de euforia que afecta a millones de personas en los Estados Unidos que padecen de depresión. Los episodios maníacos se pueden caracterizar por un humor elevado, expansivo, o irritable que dura varios días, y que va acompañado a menudo de otros síntomas, tales como, hiperactividad, hiperlocuacidad, indiscreción social, aumento de energía, presión de ideas, grandiosidad, distracción, disminución de la necesidad de sueño, y temeridad. Los pacientes maníacos pueden experimentar delirios y alucinaciones.

Los trastornos depresivos pueden implicar sistemas neuronales serotoninérgicos y noradrenérgicos según pautas terapéuticas actuales que hacen diana en los receptores de la serotonina y noradrenalina. Las rutas serotoninérgicas se originan desde los núcleos del rafe del tronco encefálico, y las rutas noradrenérgicas se originan desde el *locus ceruleus*. La disminución de la actividad eléctrica de las neuronas en el *locus ceruleus* se puede asociar con los efectos mediados por las medicaciones para la depresión.

La manía probablemente es el resultado de un desequilibrio en los mensajeros químicos dentro del cerebro. Se ha propuesto que la manía puede atribuirse a una disminución de acetilcolina. Una disminución de acetilcolina puede dar como resultado un nivel relativamente mayor de norepinefrina. Se ha informado que la administración de fosfatidil colina alivia los síntomas de la manía.

Ansiedad

Los trastornos de ansiedad pueden afectar aproximadamente de un 10 a un treinta por ciento de la población, y pueden caracterizarse por la incidencia frecuente de síntomas de miedo que incluyen excitación, inquietud, aumento de la sensibilidad, sudoración, taquicardia, aumento de la presión sanguínea, sequedad de boca, un deseo de correr o escapar, y comportamiento evasivo. La ansiedad generalizada persiste durante varios meses, y se asocia con tensión motora (temblor, contracciones nerviosas, dolores musculares, inquietud); hiperactividad autonómica (falta de aliento, palpitations, aumento del ritmo cardíaco, sudoración, manos frías) y vigilancia y exploración (sensación de estar al límite, respuesta con sobresalto exagerado, dificultad de concentración).

Las benzodiazepinas, que mejoran los efectos inhibidores del receptor de tipo A del ácido gamma aminobutírico (GABA), se usan frecuentemente para tratar la ansiedad. La buspirona es otro tratamiento efectivo contra la ansiedad.

Enfermedad de alzheimer

La enfermedad de Alzheimer es un trastorno degenerativo del cerebro caracterizado por síntomas neuropsiquiátricos cognitivos y no cognitivos, que representa aproximadamente el 60% de todos los casos de demencia en pacientes de más de 65 años de edad. Los síntomas psiquiátricos son comunes en la enfermedad de Alzheimer, con psicosis (alucinaciones y delirios) presente en aproximadamente el cincuenta por ciento de los pacientes afectados. Como en la esquizofrenia, los síntomas psicóticos positivos son comunes en la enfermedad de Alzheimer. Los delirios se producen normalmente de manera más frecuente que las alucinaciones. Los pacientes de Alzheimer pueden presentar también síntomas negativos, tales como desconexión, apatía, sensibilidad emocional disminuida, pérdida de voluntad, y disminución de la iniciativa.

Los pacientes con enfermedad de Alzheimer pueden presentar también aumento de los ventrículos lateral y tercero así como atrofia de las estructuras temporales.

ES 2 314 193 T3

Es posible que los síntomas psicóticos de la enfermedad de Alzheimer puedan implicar un cambio en la concentración de la dopamina o la acetilcolina, lo que puede aumentar un equilibrio dopaminérgico/colinérgico, dando como resultado por tanto un comportamiento psicótico. Por ejemplo, se ha propuesto que un incremento en la liberación de dopamina puede ser responsable de los síntomas positivos de la esquizofrenia. Esto puede dar como resultado una perturbación positiva del equilibrio dopaminérgico/colinérgico. En la enfermedad de Alzheimer, la reducción de neuronas colinérgicas reduce eficazmente la liberación de acetilcolina dando como resultado una perturbación negativa del equilibrio dopaminérgico/colinérgico. De hecho, los agentes antipsicóticos que se usan para aliviar la psicosis en esquizofrenia son también útiles para aliviar la psicosis en los pacientes de Alzheimer.

Parte de los síntomas asociados con los trastornos neuropsiquiátricos parecen estar atribuidos, al menos en parte, a la hiperexcitabilidad de las neuronas dentro del cerebro. Esta interpretación está apoyada por la farmacología asociada con los tratamientos terapéuticos actuales. Por ejemplo, muchos de los tratamientos antipsicóticos se dirigen a interferir con el enlace de la dopamina a los receptores de dopamina, tal como se ha descrito anteriormente. Similarmente, la manía y la ansiedad se tratan a menudo con benzodiazepinas, que mejoran los efectos inhibidores de la inhibición mediada por GABA. La patente de los Estados Unidos 6.306.403 describe la administración intracraneal de una toxina botulínica para tratar diversos trastornos del movimiento. Adicionalmente, se sabe que se pueden usar procedimientos estereotácticos para administrar una composición farmacéutica en un área discreta del cerebro para aliviar satisfactoriamente un temblor parkinsoniano. Véase, por ejemplo, Pahapill P. A., y col., *Tremor arrest with thalamic microinjections of muscimol in patients with essential tremor*, *Ann Neur* 46(2); 249-252 (1999).

Sin embargo, los tratamientos terapéuticos actuales dan como resultado diversos efectos secundarios adversos. Estos efectos secundarios se pueden atribuir al hecho de que los agentes farmacéuticos se administran normalmente sistémicamente, y por tanto, los agentes tienen una acción relativamente no específica con respecto a los diversos sistemas biológicos del paciente. Por ejemplo, la administración de benzodiazepinas puede dar como resultado sedación y relajación muscular. Además, se puede desarrollar tolerancia a estos fármacos, así como se pueden desarrollar síndromes de abstinencia. Las estrategias terapéuticas actuales requieren también la administración consistente y repetida de los agentes para conseguir los efectos deseados.

Toxina botulínica

El género *Clostridium* tiene más de ciento ventisiete especies, agrupadas según su morfología y funciones. Las bacterias anaerobias gram positivas de *Clostridium botulinum* producen una potente neurotoxina polipéptidica, la toxina botulínica, que produce una enfermedad neuroparalítica en seres humanos y animales denominada botulismo. Las esporas de *Clostridium botulinum* se encuentran en el suelo y pueden crecer en envases de alimentos inadecuadamente esterilizados y precintados de conservas hechas en casa, que son la causa de muchos de los casos de botulismo. Los efectos del botulismo normalmente aparecen de 18 a 36 horas después de la ingestión de los productos alimenticios infectados con un cultivo o esporas de *Clostridium botulinum*. La toxina botulínica puede pasar aparentemente sin atenuar a través del revestimiento del intestino y atacar las neuronas motoras periféricas. Los síntomas de intoxicación por toxina botulínica pueden progresar desde dificultades para caminar, tragar y hablar hasta parálisis de los músculos respiratorios y muerte.

La toxina botulínica de tipo A es el agente biológico natural más letal conocido por el hombre. Aproximadamente 50 picogramos de una toxina botulínica de tipo A comercialmente disponible (complejo de neurotoxina modificada)¹ tiene una DL₅₀ en ratones (es decir, 1 unidad). Una unidad de BOTOX[®] contiene aproximadamente 50 picogramos (aproximadamente 56 attomoles) de complejo de toxina botulínica de tipo A. de manera interesante, sobre una base molar, la toxina botulínica de tipo A es aproximadamente 1,8 billones de veces más letal que la difteria, aproximadamente 600 millones de veces más letal que el cianuro de sodio, aproximadamente 30 millones de veces más letal que la toxina de cobra y aproximadamente 12 millones de veces más letal que el cólera. Singh, *Critical Aspects of Bacterial Protein Toxins*, páginas 63-84 (capítulo 4) de *Natural Toxins II*, editado por B.R. Singh y col., Plenum Press, Nueva York (1976) (cuando la DL₅₀ declarada de toxina botulínica de tipo A de 0,3 ng equivalen a 1 U se corrige por el hecho de que aproximadamente 0,05 ng de BOTOX[®] equivalen a 1 unidad). Una unidad (U) de toxina botulínica se define como la DL₅₀ tras inyección intraperitoneal en hembras de ratones Swiss Webster que pesaban de 18 a 20 gramos cada una.

Se han caracterizado siete neurotoxinas botulínicas inmunológicamente distintas, siendo estas respectivamente los serotipos A, B, C₁, D, E, F y G de neurotoxina botulínica, cada uno de los cuales se distingue mediante la neutralización con anticuerpos específicos de tipo. Los diferentes serotipos de toxina botulínica varían por las especies animales a las que afectan, y en la gravedad y duración de la parálisis que provocan. Por ejemplo, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo A es 500 veces más potente, tal como se ha medido mediante el índice de parálisis producida en la rata, que la toxina botulínica de tipo B. Adicionalmente, se ha determinado que la toxina botulínica de tipo B no es tóxica en primates a una dosis de 480 U/kg que es aproximadamente 12 veces la DL₅₀ en primates para la toxina botulínica de tipo A. Moyer E y col., *Botulinum Toxin Type B: Experimental and Clinical Experience*, siendo el capítulo 6, páginas 71-85 de "Therapy With Botulinum Toxin", editado por Jankovic, J. y col., (1994); Marcel Dekker, Inc. La toxina botulínica se une aparentemente con elevada afinidad a las neuronas motoras colinérgicas, se transloca en la neurona y bloquea la liberación de acetilcolina.

¹ (Disponible de Allergan, Inc., Irving, California, bajo el nombre comercial de BOTOX[®] en viales de 100 unidades)

ES 2 314 193 T3

Sin tener en cuenta el serotipo, el mecanismo molecular de intoxicación de la toxina parece ser similar e implicar al menos tres etapas o fases. En la primera etapa del proceso, la toxina se une con la membrana presináptica de la neurona diana por medio de una interacción específica entre la cadena pesada, cadena H, y un receptor de la superficie celular; se piensa que el receptor es diferente para cada tipo de toxina botulínica y para la toxina del tétanos. El segmento carboxilo terminal de la cadena H, H_c, parece ser importante para que la toxina haga diana en la superficie celular.

En la segunda etapa, la toxina cruza la membrana plasmática de la célula envenenada. La toxina es en primer lugar tragada por la célula a través de la endocitosis mediada por receptor, y se forma un endosoma que contiene la toxina. A continuación, la toxina escapa del endosoma hacia el citoplasma de la célula. Se piensa que esta etapa está mediada por el segmento aminoterminal de la cadena H, H_N, que estimula un cambio conformacional de la toxina en respuesta a un pH de aproximadamente 5,5 o inferior. Se sabe que los endosomas poseen una bomba de protones que disminuye el pH intraendosómico. El cambio conformacional expone los residuos hidrófobos de la toxina, lo que permite que la propia toxina quede incluida en la membrana endosómica. A continuación, la toxina (o como mínimo la cadena ligera) se transloca a través de la membrana endosómica hacia el citoplasma.

La última etapa del mecanismo de actividad de la toxina botulínica parece implicar la reducción del enlace disulfuro que une la cadena pesada, cadena H, y la cadena ligera, cadena L. La actividad tóxica completa de las toxinas botulínica y tetánica está contenida en la cadena L de la holotoxina; la cadena L es una endopeptidasa de cinc (Zn⁺⁺) que rompe selectivamente proteínas esenciales para el reconocimiento y acoplamiento de las vesículas que contienen el neurotransmisor con la superficie citoplásmica de la membrana plasmática, y la fusión de las vesículas con la membrana plasmática. La neurotoxina tetánica, los tipos B, D, F, y G de la toxina botulínica producen la degradación de la sinaptobrevina (denominada también proteína de membrana asociada a la vesícula (VAMP), una proteína de membrana asociada al sinaptosoma. La mayor parte de la VAMP presente en la superficie citoplásmica de la vesícula sináptica se elimina como resultado de uno cualquiera de estos episodios de rotura. Los serotipos A y E de la toxina botulínica rompen SNAP-25. Se pensaba inicialmente que el serotipo C₁ de la toxina botulínica rompía la syntaxina, pero se encontró que rompía la syntaxina y SNAP-25. Cada una de las toxinas botulínicas rompe específicamente un enlace diferente, excepto la toxina botulínica de tipo B (y la toxina tetánica) que rompen el mismo enlace.

Se han usado las toxinas botulínicas en ámbitos clínicos para el tratamiento de trastornos musculares caracterizados por músculos esqueléticos hiperactivos. La Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos ha aprobado un complejo de toxina botulínica de tipo A para el tratamiento del blefaroespasmio, estrabismo y espasmo hemifacial. Los serotipos de toxina botulínica no de tipo A tienen aparentemente una menor potencia y una duración más corta de la actividad en comparación con la toxina botulínica de tipo A. Los efectos clínicos de la toxina botulínica de tipo A intramuscular periférica se observan usualmente una semana después de la inyección. La duración normal del alivio sintomático de una inyección intramuscular única de toxina botulínica de tipo A tiene un promedio aproximado de tres meses.

Aunque todos los serotipos de toxinas botulínicas inhiben aparentemente la liberación del neurotransmisor acetilcolina en la unión neuromuscular, lo hacen afectando diferentes proteínas neurosecretoras y/o rompiendo estas proteínas en diferentes sitios. Por ejemplo, ambos tipos botulínicos A y E rompen la proteína de 25 kiloDalton (kD) asociada a sinaptosoma (SNAP-25), pero hacen diana en diferentes secuencias de aminoácidos dentro de esta proteína. Los serotipos B, D, F y G de toxina botulínica actúan sobre la proteína asociada a vesícula (VAMP, denominada también sinaptobrevina), cada serotipo rompiendo la proteína en un sitio diferente. Finalmente, se ha demostrado que la toxina botulínica de tipo C₁ rompe la syntaxina y SNAP-25. Estas diferencias en el mecanismo de acción pueden afectar la potencia relativa y/o la duración de la acción de los diversos serotipos de toxina botulínica. Aparentemente, puede encontrarse un sustrato para una toxina botulínica en una variedad de diferentes tipos celulares. Véanse por ejemplo, *Biochem, J* 1;339 (pt 1):159-65:199, y *Mov Disord, 10(3):376:1995* (las células B de islotes pancreáticos contienen al menos SNA-25 y sinaptobrevina).

El peso molecular de la molécula de proteína de la toxina botulínica para el total de los siete serotipos conocidos de toxina botulínica es aproximadamente de 150 kD. De manera interesante, las toxinas botulínicas se liberan por las bacterias clostrídicas en forma de complejos que comprenden la molécula de 150 kD de la toxina botulínica junto con proteínas no de toxina asociadas. De esta manera, se puede producir un complejo de tipo A de toxina botulínica por las bacterias clostrídicas como formas de 900 kD, 500 kD y 300 kD. Los tipos B y C₁ de toxina botulínica se producen ambos como complejos de 300 kD y 500 kD. Finalmente, los tipos E y F de toxina botulínica se producen únicamente como complejos de aproximadamente 300 kD. Se cree que los complejos (es decir, peso molecular mayor de aproximadamente 150 kD) contienen una proteína hemaglutinina no de toxina y una proteína no hemaglutinina no de toxina y no tóxica. Estas dos proteínas no de toxina (que junto con la molécula de toxina botulínica comprenden el complejo relevante de neurotoxina) pueden actuar para proporcionar estabilidad frente a la desnaturalización de la molécula de toxina botulínica y protección frente a los ácidos digestivos cuando la toxina se ingiere. Adicionalmente, es posible que los complejos más grandes de toxina botulínica (mayores de aproximadamente 150 kD de peso molecular) puedan dar como resultado una velocidad más lenta de difusión de la toxina botulínica lejos del lugar de la inyección intramuscular de un complejo de toxina botulínica.

Se ha indicado en estudios *in vitro* que la toxina botulínica inhibe la liberación inducida por el catión potasio de acetilcolina y norepinefrina procedentes de los cultivos celulares primarios de tejido de tronco encefálico. Adicionalmente, se ha informado que la toxina botulínica inhibe la liberación provocada de glicina y glutamato en los cultivos

primarios de neuronas de médula espinal y que, en preparaciones de sinaptosoma de cerebro, la toxina botulínica inhibe la liberación de cada uno de los neurotransmisores acetilcolina, dopamina, norepinefrina (Habermann E., y col., *Tetanus Toxin and Botulinum A and C Neurotoxins Inhibit Noradrenaline Release From Cultures Mouse Brain*, J Neurochem 51(2);522-527:1988) CGRP, sustancia P y glutamato (Sánchez-Prieto, J., y col., *Botulinum Toxin A Blocks Glutamate Exocytosis From Guinea Pig Cerebral Cortical Synaptosomes*, Eur J. Biochem 165;675-681:1987. De ésta manera, cuando se usan concentraciones adecuadas, la toxina botulínica bloquea la liberación provocada mediante estímulo de la mayor parte de neurotransmisores. Véanse por ejemplo, Pearce, L. B. *Pharmacologic Characterization of Botulinum Toxin For Basic Science and Medicine*, Toxicol 35(9);1373-1412 a 1393; Bigalke H., y col., *Botulinum A Neurotoxin Inhibits Non-Cholinergic Synaptic Transmission in Mouse Spinal Cord Neurons in Culture*, Brain Research 360;318-324:1985; Habermann E., *Inhibition by Tetanus and Botulinum A Toxin of the release of [³H]Noradrenaline and [³H]GABA From Rat Brain Homogenate*, Experientia 44;224-226:1988, Bigalke H., y col., *Tetanus Toxin and Botulinum A Toxin Inhibit Release and Uptake of Various transmitters, as Studied with Particulate Preparations From Rat Brain and Spinal Cord*, Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol 316;244-251:1981, y; Jankovic J. y col., *Therapy With Botulinum Toxin*, Marcel Dekker, Inc., (1994), página 5.

La toxina botulínica de tipo A se puede obtener estableciendo y haciendo crecer cultivos de *Clostridium botulinum* en un fermentador, y a continuación cosechando y purificando la mezcla fermentada según procedimientos conocidos. Todos los serotipos de toxina botulínica se sintetizan inicialmente en forma de proteínas inactivas de cadena única que deben romperse o cortarse por proteasas para que se conviertan en neuroactivas. Las cepas bacterianas que producen los serotipos A y G de toxina botulínica poseen proteasas endógenas y los serotipos A y G pueden por tanto recuperarse de los cultivos bacterianos predominantemente en su forma activa. Por el contrario, los serotipos C₁, D y E de toxina botulínica se sintetizan por cepas no proteolíticas y están por tanto normalmente inactivados cuando se recuperan del cultivo. Los serotipos B y F se producen por cepas proteolíticas y no proteolíticas y se pueden recuperar por tanto en cualquiera de las formas activa o inactiva. Sin embargo, incluso las cepas proteolíticas que producen, por ejemplo, el serotipo de tipo B de toxina botulínica únicamente rompen una porción de la toxina producida. La proporción exacta de moléculas cortadas a no cortadas depende de la duración de la incubación y de la temperatura del cultivo. Por tanto, es probable que un cierto porcentaje de cualquier preparación de, por ejemplo, toxina de tipo B de toxina botulínica esté inactivo, posiblemente teniendo en cuenta la potencia significativamente menor conocida de la toxina botulínica de tipo B en comparación con la toxina botulínica de tipo A. La presencia de moléculas inactivas de toxina botulínica en una preparación clínica contribuirá a la carga total de proteína de la preparación, que se ha enlazado con un aumento en la antigenicidad, sin contribuir a su eficacia clínica. Adicionalmente, se sabe que la toxina botulínica de tipo B tiene, tras la inyección intramuscular, una duración más corta de la actividad y es también menos potente que la toxina botulínica de tipo A al mismo nivel de dosis.

Se puede producir toxina botulínica de tipo A cristalina, de alta calidad a partir de la cepa Hall A de *Clostridium botulinum* con características de $\geq 3 \times 10^7$ U/mg, una A_{260}/A_{278} de menos de 0,60 y un modelo distinto de división en bandas en electroforesis en gel. Se puede usar el conocido procedimiento Shantz para obtener toxina botulínica de tipo A cristalina, tal como se muestra en Shantz, E. J., y col., *Properties and use of Botulinum toxin and Other Microbial Neurotoxins in Medicine*, Microbiol Rev. 56;80-99:1992. Generalmente, se puede aislar y purificar el complejo de toxina botulínica de tipo A a partir de una fermentación anaerobia cultivando *Clostridium botulinum* de tipo A en un medio adecuado. Se puede usar también el procedimiento conocido, tras la separación de las proteínas no de toxina, para obtener toxinas botulínicas puras, tales como por ejemplo: toxina botulínica de tipo A purificada con un peso molecular de aproximadamente 150 kD, con una potencia específica de la DL₅₀ de 1-2 x 10⁸ U/mg o mayor; toxina botulínica de tipo B purificada con un peso molecular de aproximadamente 156 kD con una potencia específica de la DL₅₀ de 1-2 X 10⁸ U/mg o mayor, y; toxina botulínica de tipo F purificada con un peso molecular de aproximadamente 155 kD con una potencia específica de la DL₅₀ de 1-2 X 10⁷ U/mg o mayor.

Se pueden obtener toxinas botulínicas y/o complejos de toxina botulínica de List Biological Laboratories, Inc., Campbell, California; del Centre for Applied Microbiology and Research Porton Down, Reino Unido; Wako (Osaka, Japón), Metabiotics (Madison, Wisconsin) así como de Sigma Chemicals de San Luis, Missouri.

La toxina botulínica pura es tan lábil que generalmente no se usa para preparar una composición farmacéutica. Además, los complejos de toxina botulínica, tales como el complejo de toxina de tipo A son extremadamente susceptibles a la desnaturalización debida a desnaturalización superficial, calor, y condiciones alcalinas. Las proteínas toxoides forman la toxina inactivada que puede ser inmunogénica. Los anticuerpos resultantes pueden volver a un paciente refractario a la inyección de toxina.

Tal como con las enzimas en general, las actividades biológicas de las toxinas botulínicas (que son peptidasas intracelulares) son dependientes, al menos en parte, de su conformación tridimensional. De esta manera, la toxina botulínica de tipo A se detoxifica por el calor, la elasticidad superficial de diversos compuestos químicos y el secado superficial. Adicionalmente, se sabe que la dilución del complejo de toxina obtenido mediante cultivo conocido, fermentación y purificación de concentraciones muy, muy bajas de toxina dan como resultado una detoxificación rápida de la toxina a no ser que esté presente un agente estabilizante adecuado. La dilución de la toxina a partir de cantidades en miligramos hasta una solución que contiene nanogramos por mililitro presenta dificultades significativas debido a la rápida pérdida de toxicidad específica tras dicha elevada dilución. Debido a que la toxina puede usarse meses o años después que se formule la composición farmacéutica que contiene la toxina, la toxina puede estabilizarse con un agente estabilizante tal como albúmina y gelatina.

ES 2 314 193 T3

Una composición farmacéutica comercialmente disponible que contiene la toxina botulínica se comercializa bajo la marca comercial BOTOX® (disponible de Allergan, Inc., de Irving, California). BOTOX® está constituida por un completo de toxina botulínica purificada de tipo A, albúmina y cloruro de sodio envasado en forma seca al vacío y estéril. La toxina botulínica de tipo A se fabrica a partir de un cultivo de la cepa Hall de *Clostridium botulinum* que crece en un medio que contiene amina N-Z y extracto de levaduras. El complejo de toxina botulínica de tipo A se purifica a partir de la solución del cultivo mediante una serie de precipitaciones ácidas hasta un complejo cristalino constituido por proteína de toxina activa de elevado peso molecular y una proteína hemaglutinina asociada. El complejo cristalino se vuelve a disolver en una solución que contiene solución salina y albúmina y se filtra en forma estéril (0,2 micrómetros) antes del secado al vacío. El producto seco al vacío se almacena en un congelador a o por debajo de -5°C. El BOTOX® puede reconstituirse con solución salina no preservada antes de la inyección intramuscular. Cada vial de BOTOX® contiene aproximadamente 100 unidades (U) de complejo de neurotoxina purificada de toxina de tipo A de *Clostridium botulinum*, 0,5 miligramos de albúmina de suero humano y 0,9 miligramos de cloruro de sodio en una forma seca al vacío, estéril sin conservante.

Para reconstituir BOTOX® seco al vacío, se usa solución salina normal sin conservante; (Inyección de Cloruro de Sodio al 0,9%) preparando la cantidad apropiada de diluyente en la jeringa de tamaño apropiado. Debido a que BOTOX® puede desnaturalizarse por burbujeo o agitación violenta similar, el diluyente se inyecta suavemente en el vial. Por razones de esterilidad, BOTOX® se administra preferiblemente en el intervalo comprendido dentro de las cuatro horas después de que el vial se retira del congelador y se reconstituye. Durante estas cuatro horas, se puede almacenar el BOTOX® reconstituido en un refrigerador a aproximadamente 2°C a aproximadamente 8°C. Se ha informado que el BOTOX® reconstituido refrigerado retiene su potencia durante al menos aproximadamente dos semanas. *Neurology*, 48:249-53:1997.

Se ha informado que se ha usado la toxina botulínica de tipo A en ámbitos clínicos tal como sigue:

(1) aproximadamente 75-125 unidades de BOTOX® por inyección intramuscular (múltiples músculos) para tratar la distonía cervical;

(2) 5-10 unidades de BOTOX® por inyección intramuscular para tratar las líneas glabellares (arrugas de la frente) (5 unidades inyectadas intramuscularmente en el músculo procerus y 10 unidades inyectadas intramuscularmente en cada músculo superciliar corrugador);

(3) aproximadamente 30-80 unidades de BOTOX® para tratar el estreñimiento mediante inyección intraesfínter del músculo puborectal;

(4) aproximadamente 1-5 unidades por músculo o BOTOX® inyectado intramuscularmente para tratar el blefaroespasma inyectando el músculo ocular orbicular pretarsal lateral del párpado superior y el ocular orbicular pretarsal lateral del párpado inferior.

(5) para tratar el estrabismo, se han inyectado intramuscularmente los músculos extraoculares con entre aproximadamente 1-5 unidades de BOTOX®, variando la cantidad inyectada en función del tamaño del músculo que se va a inyectar y la extensión deseada de la parálisis muscular (es decir, la cantidad de corrección de dioptrías deseada).

(6) para tratar la espasticidad del miembro superior tras apoplejía mediante inyecciones intramusculares de BOTOX® en cinco músculos flexores diferentes del miembro superior

(a) flexor profundo de los dedos: 7,5 U a 30 U

(b) flexor superficial de los dedos: 7,5 U a 30 U

(c) flexor cubital del carpo: 10 U a 40 U

(d) flexor radial del carpo: 15 U a 60 U

(e) bíceps braquial: 50 U a 200 U. Se ha inyectado cada uno de los cinco músculos indicados en la misma sesión de tratamiento, de tal manera que el paciente recibe entre 90 U y 360 U de BOTOX® en el músculo flexor del miembro superior mediante inyección intramuscular en cada sesión de tratamiento.

(7) para tratar la migraña, una inyección de 25 U de BOTOX® inyectado pericranealmente (inyectado simétricamente en los músculos glabellares, frontales y temporales) ha demostrado un beneficio significativo como tratamiento profiláctico de la migraña en comparación con el vehículo tal como se midió mediante las medidas de disminución de frecuencia de migraña, gravedad máxima asociada a vómitos y uso extremo de medicación durante el período de tres meses tras inyección de 25 U.

Adicionalmente, se ha usado intramuscularmente la toxina botulínica en el tratamiento del temblor en pacientes con enfermedad de Parkinson, aunque se ha informado que los resultados no han sido excelentes. Marjama-Jyons, J., y col., *Tremor-Predominant Parkinson's Disease*, *Drugs & Aging* 16(4):273-278:2000.

ES 2 314 193 T3

Se sabe que la toxina botulínica de tipo A puede tener una eficacia de hasta 12 meses (*European J. Neurology* 6 (Supp 4): S111-S1150:1999), y en algunas circunstancias de hasta 27 meses. *The Laryngoscope* 109:1344-1346:1999. Sin embargo, la duración normal de una inyección intramuscular de BOTOX® es normalmente de aproximadamente 3 a 4 meses.

El éxito de la toxina botulínica de tipo A para tratar una variedad de dolencias clínicas ha dirigido el interés hacia otros serotipos de toxina botulínica. Dos preparaciones de toxina botulínica de tipo A comercialmente disponibles para uso en seres humanos son BOTOX® disponible de Allergan, Inc., de Irving, California, y Dysport® disponible de Beaufour Ipsen, Porton Down, Inglaterra. Una preparación de toxina botulínica de tipo B (MyoBloc®) está disponible de Elan Pharmaceuticals de San Francisco, California.

Además de poseer acciones farmacológicas en localizaciones periféricas, las toxinas botulínicas pueden tener también efectos inhibidores en el sistema nervioso central. El trabajo de Weigand y col., *Nauny-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1976; 292, 161-165, y el de Habermann, *Nauny-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1974; 281, 41-56 demostró que la toxina botulínica es capaz de ascender hasta el área espinal mediante transporte retrógrado. Como tal, una toxina botulínica inyectada en una localización periférica, por ejemplo intramuscularmente, puede transportarse de manera retrógrada a la médula espinal.

La Patente de los Estados Unidos N° 5.989.545 describe que puede usarse una neurotoxina clostrídica modificada o fragmento de la misma, preferiblemente una toxina botulínica, conjugada químicamente o fusionada de manera recombinante a un resto diana concreto para tratar el dolor mediante la administración del agente en la médula espinal.

Acetilcolina

Normalmente, sólo un único tipo de neurotransmisor de molécula pequeña se libera por cada tipo de neurona en el sistema nervioso de los mamíferos. El neurotransmisor acetilcolina se segrega por las neuronas en muchas áreas del cerebro, pero específicamente por las células piramidales grandes del córtex motor, por diversas neuronas diferentes en los ganglios basales, por las neuronas motoras que inervan los músculos esqueléticos, por las neuronas pregangliónicas del sistema nervioso autónomo (simpático y parasimpático), por las neuronas postgangliónicas del sistema nervioso parasimpático, y por alguna de las neuronas postgangliónicas del sistema nervioso simpático. Esencialmente, sólo las fibras nerviosas simpáticas postgangliónicas de las glándulas sudoríparas, los músculos piloerectores y unos pocos vasos sanguíneos son colinérgicos así que la mayor parte de las neuronas postgangliónicas del sistema nervioso simpático segregan el neurotransmisor norepinefrina. En la mayor parte de los casos, la acetilcolina tiene un efecto excitador. Sin embargo, se sabe que la acetilcolina tiene efectos inhibidores en alguno de los extremos nerviosos parasimpáticos periféricos, tal como la inhibición del latido cardíaco por el nervio vago.

Las señales eferentes del sistema nervioso autónomo se transmiten por el cuerpo a través de cualquiera del sistema nervioso simpático o del sistema nervioso parasimpático. Las neuronas pregangliónicas del sistema nervioso simpático se extienden desde los cuerpos celulares de las neuronas simpáticas pregangliónicas localizadas en el asta intermediolateral de la médula espinal. Las fibras nerviosas simpáticas pregangliónicas se extienden desde el cuerpo celular, la sinapsis con las neuronas postgangliónicas localizadas en cualquiera del ganglio simpático paravertebral o en el ganglio prevertebral. Debido a que las neuronas pregangliónicas del sistema nervioso simpático y del parasimpático son colinérgicas, la aplicación de acetilcolina en los ganglios excitará las neuronas postgangliónicas simpáticas y parasimpáticas.

La acetilcolina activa dos tipos de receptores, los receptores muscarínicos y nicotínicos. Los receptores muscarínicos se encuentran en todas las células efectoras estimuladas por las neuronas postgangliónicas del sistema nervioso parasimpático así como en aquellas estimuladas por las neuronas colinérgicas postgangliónicas del sistema nervioso simpático. Los receptores nicotínicos se encuentran en la médula adrenal, así como en el interior del ganglio autónomo, que está sobre la superficie celular de la neurona postgangliónica en la sinapsis entre las neuronas pregangliónicas y postgangliónicas de los sistemas simpático y parasimpático. Los receptores nicotínicos se encuentran también en muchos extremos de los nervios no autónomos, por ejemplo en las membranas de las fibras musculares esqueléticas en la unión neuromuscular.

La acetilcolina se libera desde las neuronas colinérgicas cuando pequeñas vesículas intracelulares transparentes se fusionan con la membrana celular neuronal presináptica. Una amplia variedad de células secretoras no neuronales, tales como los islotes celulares pancreáticos y de la médula adrenal (así como la línea celular PC12) liberan catecolaminas y hormona paratiroidea, respectivamente, desde grandes vesículas de núcleo denso. La línea celular PC12 es un clon de células de feocromocitoma de rata usada extensivamente como un modelo de cultivo de tejido para los estudios de desarrollo simpatoadrenal. La toxina botulínica inhibe la liberación de ambos tipos de compuestos en ambos tipos de células *in vitro*, permeabilizada (tal como mediante electroporación) o por inyección directa de la toxina en la célula desnervada. Se sabe también que la toxina botulínica bloquea la liberación del neurotransmisor glutamato de los cultivos celulares de sinaptosomas corticales.

Se forma una unión neuromuscular en el músculo esquelético por la proximidad de los axones a las células musculares. Una señal transmitida a través del sistema nervioso da como resultado un potencial de acción en el axón terminal, con la activación de los canales de iones y la liberación resultante del neurotransmisor acetilcolina desde las vesículas sinápticas intraneuronales, por ejemplo, en la placa motora terminal de la unión neuromuscular. La acetilco-

lina cruza el espacio extracelular para enlazar con las proteínas receptoras de la acetilcolina sobre la superficie de la placa muscular terminal. Una vez se ha producido un enlace suficiente, un potencial de acción de la célula muscular produce cambios específicos en el canal de iones de la membrana, dando como resultado la contracción de la célula muscular. A continuación se libera la acetilcolina de las células musculares y se metaboliza mediante las colinesterasas en el espacio extracelular. Los metabolitos se recirculan al axón terminal para su reprocesamiento a más acetilcolina.

Lo que se necesita por tanto es un procedimiento para tratar eficazmente un trastorno neuropsiquiátrico mediante la administración de una composición farmacéutica que tenga las características de larga duración de la actividad, velocidades bajas de difusión fuera de un tejido diana intracraneal escogido en el que se administra, y efectos sistémicos nominales a niveles de dosis terapéutica.

Resumen

La presente invención satisface esta necesidad y proporciona una neurotoxina clostrídica y una toxina botulínica, respectivamente, para uso en los procedimientos para tratar eficazmente trastornos neuropsiquiátricos mediante la administración intracraneal de dicha neurotoxina que tiene las características de larga duración de la actividad, velocidades bajas de difusión fuera de un emplazamiento intracraneal en el que se administra y efectos sistémicos insignificantes a niveles de dosis terapéutica.

Se aplican las siguientes definiciones en el presente documento:

“Aproximadamente” significa aproximado o próximo y en el contexto de un valor o intervalo numérico que se muestra en el presente documento significa $\pm 10\%$ del valor o intervalo numérico enumerado o reivindicado.

“Administración local” significa administración directa de una composición farmacéutica a o en la vecindad de un emplazamiento o en el interior de un cuerpo animal, en cuyo emplazamiento se desea un efecto biológico de la composición farmacéutica. La administración local excluye rutas de administración sistémica, tal como administración intravenosa u oral.

“Neurotoxina” significa una molécula biológicamente activa con afinidad específica por un receptor superficial celular neuronal. Una forma de realización incluye toxinas clostrídicas en forma de toxina pura y en forma complejada con una o más proteínas no de toxina asociadas a toxina.

“Intracraneal” significa en el interior del cráneo o en o próximo al extremo dorsal de la médula espinal e incluye la médula, el tronco encefálico, la protuberancia, el cerebelo y el cerebro.

Los procedimientos descritos para tratar trastornos neuropsiquiátricos comprenden la etapa de administrar intracranealmente a un paciente una neurotoxina tal como se reivindica. La neurotoxina se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz para aliviar al menos un síntoma del trastorno. La neurotoxina alivia los síntomas asociados con el trastorno reduciendo las secreciones del neurotransmisor de las neuronas expuestas a la neurotoxina.

Una neurotoxina adecuada es una neurotoxina fabricada por las bacterias *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum*, o *Clostridium beratti*. En algunas formas de realización de la invención, los trastornos neuropsiquiátricos se tratan mediante la administración intracraneal de una toxina botulínica al paciente. La toxina botulínica puede ser una toxina botulínica de tipo A, tipo B, tipo C₁, tipo D, tipo E, tipo F, o tipo G. La toxina botulínica puede administrarse en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-3} U/kg y aproximadamente 10 U/kg. Los efectos de la toxina botulínica pueden persistir durante entre aproximadamente 1 mes y 5 años.

Las neurotoxinas según la invención incluyen toxinas botulínicas producidas de manera recombinante producidas por *E. coli*. Adicional o alternativamente, dicha neurotoxina puede ser una neurotoxina modificada, esto es, una neurotoxina que tiene al menos uno de sus aminoácidos eliminado, modificado o sustituido, en comparación con una nativa, o la neurotoxina modificada puede ser una neurotoxina producida de manera recombinante o un derivado o fragmento de la misma. Dichas neurotoxinas son aún capaces de inhibir la liberación del neurotransmisor.

La neurotoxina tal como se reivindica es para ser administrada en un emplazamiento dentro del cerebro que se cree está implicado en el trastorno que se está tratando. La neurotoxina puede administrarse en una región inferior del cerebro, la región pontina, el núcleo pedúnculo pontino, el *locus ceruleus*, o el área tegmental ventral, por ejemplo. La neurotoxina puede aliviar el síntoma que está asociado con la liberación del neurotransmisor hiperactivo. La neurotoxina puede también restaurar un equilibrio entre dos sistemas neuronales para aliviar el trastorno. La neurotoxina que se va a administrar al paciente puede inhibir la liberación de acetilcolina de las neuronas colinérgicas, puede inhibir la liberación de dopamina de las neuronas dopaminérgicas, y puede inhibir la liberación de norepinefrina de las neuronas noradrenérgicas.

Los trastornos neuropsiquiátricos tratados según la invención descritos en el presente documento incluyen, y no se limitan a, esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, manía, y ansiedad. La neurotoxina puede aliviar un síntoma positivo asociado con el trastorno neuropsiquiátrico, por ejemplo la esquizofrenia, y puede aliviar los síntomas a las pocas horas después de la administración.

El solicitante ha encontrado sorprendentemente que una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A, puede administrarse intracranealmente en cantidades de entre aproximadamente 10^{-4} U/kg y aproximadamente 10 U/kg para aliviar un trastorno neuropsiquiátrico experimentado por un paciente humano. Preferiblemente, la toxina botulínica usada es para administrarse intracranealmente en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-3} U/kg y aproximadamente 1 U/kg. Más preferiblemente, la toxina botulínica se administra en una cantidad de entre aproximadamente 0,1 unidades y aproximadamente 5 unidades. Significativamente, el efecto que alivia el trastorno neuropsiquiátrico descrito en la presente invención puede persistir durante entre aproximadamente 2 meses y aproximadamente 6 meses cuando la administración es de una solución acuosa de la neurotoxina, y durante hasta aproximadamente cinco años cuando la neurotoxina se administra como un implante de liberación controlada.

La presente invención es útil para mejorar la función del paciente mediante la administración intracranial de dicha neurotoxina a un paciente, mejorando por tanto la función del paciente tal como se determina mediante la mejora en uno o más de los factores de reducción del dolor, reducción en el tiempo pasado en cama, aumento en el tiempo no hospitalizado, actitud más saludable y un estilo de vida más variado.

Descripción

La presente invención se basa en el descubrimiento de que la administración intracranial de una neurotoxina puede proporcionar un alivio significativo y más duradero de una variedad de trastornos neuropsiquiátricos. La administración intracranial permite administrar localmente una neurotoxina en un emplazamiento, en el interior del cráneo de un paciente, lo que tiene un efecto directo sobre las neuronas implicadas en los trastornos, y evita las complicaciones asociadas con el paso de la neurotoxina a través de la barrera hematoencefálica. De esta manera, la administración intracranial proporciona dosificaciones locales mayores de una neurotoxina en un área del cerebro, lo que se consigue con las rutas sistémicas de administración, y evita la no especificidad asociada con la administración sistémica de los agentes terapéuticos actuales. De hecho, la administración sistémica de una neurotoxina tal como una neurotoxina botulínica, está contraindicada debido a las graves complicaciones (es decir, el botulismo) que pueden resultar de la entrada de una toxina botulínica en la circulación general del paciente.

Las neurotoxinas usadas según la invención descritas en el presente documento inhiben la transmisión de las señales químicas o eléctricas entre los grupos neuronales seleccionados que están implicados en los trastornos neuropsiquiátricos. Preferiblemente, las neurotoxinas preferiblemente no son citotóxicas para las células que se exponen a la neurotoxina. La neurotoxina puede inhibir la neurotransmisión reduciendo o evitando la exocitosis del neurotransmisor de las neuronas expuestas a la neurotoxina. O bien, las neurotoxinas pueden reducir la neurotransmisión inhibiendo la generación de los potenciales de acción de las neuronas expuestas a la toxina. Los efectos supresores proporcionados por la neurotoxina deberían persistir durante un período de tiempo relativamente largo, por ejemplo, durante más de dos meses, y potencialmente durante varios años.

Las neurotoxinas usadas para tratar trastornos neuropsiquiátricos son neurotoxinas producidas a partir de bacterias *Clostridium*, tales como *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum* y *Clostridium beratti*. Adicionalmente, las neurotoxinas usadas según la invención pueden ser una toxina botulínica seleccionada entre un grupo de toxinas botulínicas de los tipos A, B, C, D, E, F, y G. En una forma de realización de la invención, la neurotoxina que se va a administrar al paciente es toxina botulínica de tipo A. La toxina botulínica de tipo A es deseable debido a su elevada potencia en seres humanos, fácil disponibilidad, y uso conocido para el tratamiento de los trastornos del músculo liso y esquelético cuando se administra localmente mediante inyección intramuscular. La neurotoxina de la presente invención puede obtenerse o procesarse mediante cultivo bacteriano, extracción de la toxina, concentración, conservación, criopreservación, y/o reconstitución; y/o (b) las neurotoxinas modificadas o recombinantes, esto es, las neurotoxinas que han tenido uno o más aminoácidos o secuencias de aminoácidos deliberadamente eliminados, modificadas o sustituidas mediante procedimientos químicos/bioquímicos conocidos de modificación de aminoácidos o mediante el uso de tecnología recombinantes conocidas de célula huésped/vector recombinante, así como los derivados o fragmentos de neurotoxinas fabricados de esta manera. Estas variantes de neurotoxina deberían retener la capacidad para inhibir la neurotransmisión entre o en medio de las neuronas, y alguna de estas variantes puede proporcionar un aumento en la duración de los efectos inhibidores en comparación con las neurotoxinas nativas, o puede proporcionar una especificidad mejorada del enlace con las neuronas expuestas a las neurotoxinas. Estas variantes de neurotoxina pueden seleccionarse seleccionando las variantes usando ensayos convencionales para identificar las neurotoxinas que tiene los efectos fisiológicos deseados de inhibición de la neurotransmisión.

Las toxinas botulínicas para uso según la presente invención pueden almacenarse en forma liofilizada, seca al vacío en envases bajo presión reducida o como líquidos estables. Antes de la liofilización, la toxina botulínica puede combinarse con excipientes, estabilizantes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como albúmina. El material liofilizado puede reconstituirse con solución salina o agua para crear una solución o composición que contiene la toxina botulínica que se va a administrar al paciente.

Aunque la composición puede contener sólo un tipo único de neurotoxina, tal como la toxina botulínica de tipo A, como ingrediente activo para suprimir la neurotransmisión, se pueden incluir otras composiciones terapéuticas de dos o más tipos de neurotoxinas, que pueden proporcionar efectos terapéuticos mejorados de los trastornos. Por ejemplo, una composición administrada a un paciente puede incluir la toxina botulínica de tipo A y la toxina botulínica de tipo B. La administración de una composición única que contiene dos neurotoxinas diferentes puede permitir la concentración eficaz de cada una de las neurotoxinas sea inferior a si se administrara una neurotoxina única al paciente

consiguiendo todavía los efectos terapéuticos deseados. La composición administrada al paciente puede contener también otros ingredientes farmacéuticamente activos, tales como, el receptor de la proteína o los moduladores del canal de iones, en combinación con la neurotoxina o neurotoxinas. Estos moduladores pueden contribuir a la reducción de la neurotransmisión entre diversas neuronas. Por ejemplo, una composición puede contener moduladores del receptor de ácido gamma aminobutírico (GABA) tipo A que mejoran los efectos inhibidores mediados por el receptor GABA_A. El receptor GABA_A inhibe la actividad neuronal enviando eficazmente el flujo de corriente a través de la membrana celular. Los moduladores del receptor GABA_A pueden mejorar los efectos inhibidores del receptor GABA_A y reducir la transmisión de la señal eléctrica o química de las neuronas.

Los ejemplos de moduladores del receptor GABA_A incluyen benzodiazepinas, tales como diazepam, oxazepam, lorazepam, prazepam, alprazolam, halazeapam, clordiazepóxido, y clorazepato. Las composiciones pueden contener también moduladores del receptor de glutamato que disminuyen los efectos excitadores mediados por los receptores de glutamato. Los ejemplos de moduladores del receptor de glutamato incluyen agentes que inhiben el flujo de corriente a través de AMPA, NMDA, y/o los receptores de glutamato de tipo kainato. Las composiciones pueden incluir también agentes que modulan los receptores de la dopamina, tales como antipsicóticos, receptores de norepinefrina, y/o los receptores de serotonina. Las composiciones pueden incluir también agentes que afectan el flujo iónico a través de los canales de calcio, canales de potasio, y/o canales de sodio regulados por voltaje. De esta manera, las composiciones usadas para tratar trastornos neuropsiquiátricos pueden incluir una o más neurotoxinas, tales como las toxinas botulínicas, adicionalmente a los moduladores del receptor del canal de iones, que pueden reducir la neurotransmisión.

La neurotoxina clostrídica y la toxina botulínica son para administrarse intracranalmente mediante cualquier procedimiento adecuado según se determine por el médico a cargo del paciente. Los procedimientos de administración permiten administrar la toxina localmente en un tejido diana seleccionado. Los procedimientos de administración incluyen la inyección de una solución o composición que contiene la neurotoxina, tal como se ha descrito anteriormente, e incluyen el implante de un sistema de liberación controlada que libera de manera controlable la neurotoxina en el objetivo diana. Dichos sistemas de liberación controlada reducen la necesidad de repetir inyecciones. La difusión de la actividad biológica de una toxina botulínica en el interior de un tejido parece ser una función de la dosis y puede graduarse. Jankovic J., y col *Therapy With Botulinum Toxin*, Marcel Dekker, Inc., (1994), página 150. De esta manera, se puede controlar la difusión de la toxina botulínica para reducir los efectos secundarios potencialmente indeseables que pueden afectar las capacidades cognitivas del paciente. Por ejemplo, puede administrarse la neurotoxina de tal manera que se cree que la neurona afecta principalmente los sistemas neurales que están implicados en el trastorno neuropsiquiátrico, y no tiene efectos negativamente adversos sobre otros sistemas neurales, tales como los sistemas sensoriales primarios.

Adicionalmente, puede administrarse la neurotoxina al paciente en unión de una solución o composición que disminuya localmente el pH del entorno del tejido diana. Se puede usar, por ejemplo, una solución que contenga ácido clorhídrico para reducir local y temporalmente el pH del entorno del tejido diana para facilitar la translocación de la neurotoxina a través de las membranas celulares. La reducción en el pH local puede ser deseable si la composición contiene fragmentos de neurotoxinas que pueden no tener un resto diana funcional (por ejemplo, una porción de la toxina que enlaza con un receptor de neurotoxina), y/o una región de translocación. Por medio de ejemplo, y como limitación, se puede administrar al paciente un fragmento de una toxina botulínica que comprende la región proteolítica de la toxina en unión con un agente que disminuya el pH local del tejido diana. Sin pretender quedar ligado por teoría particular alguna, se cree que el pH inferior puede facilitar la translocación de la región proteolítica a través de la membrana celular de tal manera que el fragmento de neurotoxina puede ejercer sus efectos tóxicos en el interior de la célula. El pH del tejido diana se disminuye sólo temporalmente de tal manera que se reduce el daño neuronal y/o glial.

Similarmente, la neurotoxina es para administrarse intracranalmente y se puede administrar sistémicamente una composición que contiene otros agentes farmacéuticos, tales como antipsicóticos, que pueden cruzar la barrera hemoencefálica, tal como mediante administración intravenosa, para conseguir los efectos terapéuticos deseados.

La neurotoxina se puede administrar también intracranalmente usando implantes intracraniales. Los implantes intracraniales se han usado para diversas dolencias. Por ejemplo, se pueden usar de manera provisional catéteres con yodo-125, implantados estereotácticamente, para tratar gliomas malignos. Scharfen. C. O., y col., *High Activity Iodine-125 Interstitial Implant For Gliomas*, Int. J. Radiation Oncology Biol Phys 24(4); 583-591:1992. Adicionalmente, se han usado implantes de catéter intracraniales permanentes sembrados con una dosis baja de ¹²⁵I, para tratar tumores cerebrales. Gaspar, y col., *Permanent ¹²⁵I Implants for Recurrent Malignant Gliomas*, Int J Radiation Oncology Biol Phys 43(5);977-982:1999. véase también el Capítulo 66, páginas 577-580, Bellezza D., y col., *Stereotactic Interstitial Brachytherapy*, en Gildenberg P. L. y col., *Textbook of Stereotactic and Functional Neurosurgery*, McGraw-Hill (1998).

Se han utilizado implantes biodegradables quirúrgicamente implantados para administrar localmente fármacos anticancerosos para tratar gliomas malignos. Por ejemplo, se han usado obleas polianhidras conteniendo 3-bis(cloroetil)-1-nitrosourea (BCNU) (Carmustina) como implantes intracraniales. Brem, H. y col., *The Safety of Interstitial Chemotherapy with BCNU-Loaded Polymer Followed by Radiation Therapy in the Treatment of Newly Diagnosed Malignant Gliomas: Phase I Trial*, J Neuro-Oncology 26:111-123:1995.

Se ha usado un polímero polianhídrido, Gliadel® (Stolle R & D, Inc., Cincinnati, OH) un copolímero de policarboxifenoxipropano y ácido sebácico en una relación de 20:80 para fabricar implantes, y se ha implantado intracra-

ES 2 314 193 T3

nealmente para tratar gliomas malignos. Pueden codisolverse el polímero y BCNU en cloruro de metileno y secarse por pulverización en microesferas. A continuación las microesferas se pueden presionar hasta discos de 1,4 cm de diámetro y 1,0 mm de espesor mediante moldeo por compresión, envasarse en bolsas de papel de aluminio bajo atmósfera de nitrógeno y esterilizarse mediante irradiación gamma de 2,2 megaRads. El polímero permite la liberación de la carmustina durante un período de 2-3 semanas, aunque puede tardarse más de un año para que el polímero se degrade en gran medida. Brem, H., y col., *Placebo-Controlled Trial of safety and Efficacy of Intraoperative Controlled Delivery by Biodegradable Polymers of Chemotherapy for Recurrent Gliomas*, Lancet 345;1008-1012:1995.

Los implantes útiles en la práctica de los procedimientos descritos en el presente documento pueden prepararse mezclando una cantidad deseada de una neurotoxina estabilizada (tal como BOTOX[®] reconstituido) en una solución de un polímero adecuado disuelto en cloruro de metileno. La solución puede prepararse a temperatura ambiente. A continuación, la solución se puede transferir a una placa Petri y evaporarse el cloruro de metileno en un desecador a vacío. Dependiendo del tamaño deseado del implante y por lo tanto la cantidad de neurotoxina incorporada, una cantidad adecuada de neurotoxina seca que incorpora el implante se comprende a 8000 psi (55,2 MPa) durante 5 segundos o a 3000 psi (20,6 MPa) durante 17 segundos en un molde para formar discos de implante que encapsulan la neurotoxina. Véase por ejemplo, Fung L. K. y col., *Pharmacokinetics of Interstitial Delivery of Carmustine 4-Hydroperoxycyclophosphamide and Paclitaxel From a Biodegradable Polymer Implant in the Monkey Brain*, Cancer Research 58;672-684:1998.

La dosificación intracraneal local de una neurotoxina, tal como una toxina botulínica, puede proporcionar un nivel terapéutico local elevado de la toxina y puede evitar significativamente la incidencia de cualquier toxicidad sistémica ya que muchas neurotoxinas, tales como las toxinas botulínicas, son demasiado grandes para cruzar la barrera hematoencefálica. Un polímero de liberación controlada capaz de la dosificación local a largo plazo de una neurotoxina en un emplazamiento intracraneal puede salvar las restricciones impuestas por la toxicidad sistémica y la barrera hematoencefálica, y permite la dosificación eficaz de un tejido diana intracraneal. Un implante adecuado, tal como se muestra en la patente de los Estados Unidos número 6.306.423 titulada "Neurotoxin Implant (*implante de neurotoxina*)", permite la introducción directa de un agente quimioterapéutico en un tejido cerebral diana mediante un polímero de liberación controlada. Los polímeros de implante usados son preferiblemente hidrófobos con el fin de proteger la neurotoxina incorporada al polímero de la descomposición inducida por el agua hasta que la toxina se libera en el entorno del tejido diana.

La administración intracraneal local de una toxina botulínica, según la presente invención, mediante inyección o implante en un núcleo del cerebro que tiene neuronas que se cree que están implicadas en los síntomas asociados con el trastorno neuropsiquiátrico proporciona una alternativa superior a la administración sistémica de las composiciones farmacéuticas a los pacientes par aliviar los síntomas asociados con trastornos neuropsiquiátricos.

Se puede hacer diana en los emplazamientos diana para la administración de la neurotoxina al paciente usando un equipo de colocación estereotáctico. Por ejemplo, se puede colocar estereotácticamente un implante que contiene una neurotoxina, o una aguja que contiene una neurotoxina, en un emplazamiento diana deseado usando la unidad Riechert-Munding y la unidad de localización multiobjetivo ZD (Zamorano-Dujovny). Un escáner mediante tomografía computarizada (TC) con mejora por contraste, inyectando 120 ml de omnipaque, 350 mg de yodo/ml con cortes de 2 mm de grosor, puede permitir la planificación del tratamiento multiplanar tridimensional (STP, Fischer, Freiburg, Alemania). Este equipo permite la planificación en función de los estudios de formación de imagen por resonancia magnética, reuniendo la información de la diana obtenida mediante TC e IRM para una confirmación inequívoca de la diana.

Se pueden usar también otros sistemas estereotácticos, que incluyen por ejemplo, el sistema estereotáctico Leksell (Downs Surgical, Inc., Decatur, GA) modificado para uso con un escáner de TC GE (General Electric Company, Milwaukee, WI) así como el sistema estereotáctico Brown-Roberts-Wells (BRW) (Radionics, Burlington, MA). Puede unirse el anillo base anular del marco estereotáctico BRW al cráneo del paciente. Se pueden obtener secciones de TC en serie a intervalos de 3 mm a través de la región (tejido diana) con un marco localizador de barra de grafito unido a la placa base. Se puede ejecutar un programa de planificación de tratamiento informatizado en un ordenador VAX 11/780 (Digital Equipment Corporation, Maynard, MA) usando coordenadas de TC de las imágenes de la barra de grafito para mapear entre el espacio TC y el espacio BRW.

Sin pretender quedar ligado por teoría particular alguna, se puede proponer un mecanismo para los efectos terapéuticos de un procedimiento practicado según la presente invención. De esta manera, una neurotoxina tal como una neurotoxina botulínica puede inhibir la exocitosis neuronal de diversos neurotransmisores diferentes del SNC, por ejemplo, la acetilcolina. Se sabe que las neuronas colinérgicas están presentes en todo el cerebro. Adicionalmente, existen núcleos colinérgicos en los ganglios basales o en el prosencéfalo basal, con proyecciones a las regiones cerebrales implicadas en la emoción, comportamiento, y otras funciones cognitivas. De esta manera, los tejidos diana para un procedimiento comprendido dentro del alcance de la presente invención pueden incluir la desnervación reversible inducida por la neurotoxina de los sistemas colinérgicos del cerebro, tales como los núcleos basales o los núcleos pedúnculo pontinos. Por ejemplo, la inyección o el implante de una neurotoxina en un núcleo colinérgico puede dar como resultado una (1) infrarregulación de la liberación dopaminérgica de los emplazamientos diana de las neuronas colinérgicas debido a la acción de la toxina sobre los terminales colinérgicos que se proyectan en el área tegmental ventral del núcleo pedúnculo pontino; y (2) la atenuación de la salida del área tegmental ventral debido a la acción de la toxina sobre las neuronas colinérgicas que se proyectan en el área tegmental ventral.

Otro mecanismo propuesto por la presente invención incluye la inhibición de la exocitosis de los neurotransmisores no de acetilcolina. Por ejemplo, se cree que una vez que la región proteolítica de una neurotoxina, tal como una toxina botulínica, se incorpora a una neurona, la toxina inhibe la liberación de cualquier neurotransmisor de esta neurona. De esta manera, se puede administrar la neurotoxina a los núcleos que contienen un número sustancial de neuronas dopaminérgicas de tal manera que la neurotoxina inhibe eficazmente la liberación de dopamina de aquellas neuronas. Similarmente, se puede administrar la neurotoxina a otros núcleos tales como los núcleos Rafe para inhibir la exocitosis de la serotonina, el *locus ceruleus* para inhibir la exocitosis de norepinefrina.

Se puede variar la cantidad de una neurotoxina seleccionada para la administración intracraneal en un tejido diana según la presente invención descrita en función de criterios tales como el trastorno neuropsiquiátrico que se está tratando, las propiedades de solubilidad de la toxina neurotoxina escogida, así como la edad, sexo, peso y estado de salud del paciente. Por ejemplo, se cree que la extensión del área del tejido cerebral influenciado va a ser proporcional al volumen de neurotoxina inyectada, mientras que se cree que la cantidad de efecto supresor es, para la mayoría de los rangos de dosis, proporcional a la concentración de la neurotoxina inyectada. Los procedimientos para determinar la ruta apropiada de administración y la dosificación se determinan generalmente caso por caso en función del médico a cargo del paciente. Dichas determinaciones son rutinarias para una persona normalmente experta en la técnica (véase por ejemplo, *Harrison's Principles of Internal Medicine* (1998), editado por Anthony Fauci y col., 14ª edición, publicado por McGraw-Hill).

La neurotoxina, tal como una toxina botulínica, se puede administrar intracranealmente según los presentes procedimientos descritos en cantidades entre aproximadamente 10^{-4} U/kg y aproximadamente 1 U/kg. Una dosis de aproximadamente 10^{-4} U/kg puede dar como resultado un efecto supresor si se dosifica a núcleos pequeños. La administración intracraneal de menos de aproximadamente 10^{-4} U/kg no da como consecuencia un resultado terapéutico significativo o duradero. Una dosis intracraneal de más de 1 U/kg de una neurotoxina, tal como una toxina botulínica, puede plantear un riesgo significativo de desnervación de diferentes sistemas neuronales aferentes o eferentes adyacentes a dichos núcleos. Sin embargo, se cree también que las neuronas en el interior de estos núcleos no son sensibles a la neurotoxina ya que son neuronas de la unión neuromuscular. Según esto, la administración de una neurotoxina, tal como una neurotoxina botulínica, en un tejido diana intracraneal implicado en los trastornos neuropsiquiátricos, reduce los síntomas asociados con los trastornos sin producir disfunción cognitiva significativa. De esta manera, los procedimientos de la presente invención proporcionan un tratamiento más selectivo con menos efectos secundarios indeseables que los regímenes terapéuticos sistémicos actuales.

Un intervalo preferido para la administración intracraneal de una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A, con el fin de conseguir un efecto supresor del temblor en el paciente tratado está entre aproximadamente 10^{-4} U/kg y aproximadamente 1 U/kg. Menos de aproximadamente 10^{-4} U/kg pueden dar como resultado un efecto supresor del síntoma neuropsiquiátrico relativamente menor, aunque todavía observable. Un intervalo más preferido para la administración intracraneal de una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A, con el fin de conseguir el efecto deseado en el paciente tratado está entre aproximadamente 10^{-3} U/kg y aproximadamente 1 U/kg. Menos de aproximadamente 10^{-3} U/kg puede dar como resultado que el efecto terapéutico deseado sea inferior al óptimo o de mayor duración posible. Un intervalo más preferido para la administración intracraneal de una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A, con el fin de conseguir un efecto supresor del temblor deseado en el paciente tratado, está entre aproximadamente 0,1 unidades y aproximadamente 20 unidades. La administración intracraneal de una toxina botulínica, tal como una toxina botulínica de tipo A en este intervalo preferido, puede proporcionar éxitos terapéuticos espectaculares.

Significativamente, un procedimiento dentro del alcance de la presente invención puede proporcionar una mejora en la función del paciente. "Mejora en la función del paciente" puede definirse como una mejora medida por factores tales como reducción del dolor, reducción en el tiempo pasado en cama, aumento en el tiempo no hospitalizado, actitud más saludable, estilo de vida más variado y/o curación permitida por el tono normal del músculo. La mejora en la función del paciente es sinónimo de una mejora en la calidad de vida (QOL). La QOL se puede evaluar usando, por ejemplo, los procedimientos de puntuación de los estudios sobre la salud SF-12 o SF-36. SF-36 evalúa la salud física y mental de un paciente en las ocho regiones de funcionamiento físico, limitaciones del rol debido a problemas físicos, funcionamiento social, dolor corporal, salud mental general, limitaciones del rol debido a problemas emocionales, vitalidad, y percepciones generales sobre la salud. Las puntuaciones obtenidas se pueden comparar con los valores publicados disponibles para diversas poblaciones generales y de pacientes.

Tal como se muestra anteriormente, el solicitante ha descubierto que la administración de una neurotoxina a un paciente que padece un trastorno neuropsiquiátrico proporciona sorprendentemente un tratamiento duradero prolongado y efectivo del trastorno neuropsiquiátrico, y reduce los síntomas asociados con el desorden. En su forma de realización más preferida, la presente invención usa una inyección o implante intracraneal de una toxina botulínica de tipo A.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos muestran procedimientos específicos abarcados por la presente invención para tratar un trastorno neuropsiquiátrico y no se pretende que limiten el alcance de la invención.

Ejemplo 1

Localización intracraneal del tejido diana y metodología

5 Se pueden usar procedimientos estereotácticos para la administración intracraneal precisa de la neurotoxina en forma acuosa o como implante para un tejido diana deseado. De esta manera, la administración intracraneal de una neurotoxina para tratar un trastorno neuropsiquiátrico se puede llevar a cabo como sigue.

10 Se puede llevar a cabo un escáner IRM preliminar del paciente de la línea de la comisura anterior-comisura posterior y su orientación respecto de los puntos de referencia óseos externos. A continuación se puede alinear la base del marco con el plano de la línea de la comisura anterior-comisura posterior. Se usa la TC como guía y se puede complementar con ventriculografía. Se puede visualizar la comisura posterior en cortes de TC de 2 mm y usarse como punto de referencia para localizar las áreas diana del cerebro.

15 La confirmación fisiológica de la localización del tejido diana se puede realizar mediante el uso de estimulación de frecuencias alta y baja mediante un electrodo que acompaña o se incorpora en la jeringa con aguja larga usada. Se puede usar un electrodo termistor de 1,6 mm de diámetro con una punta expuesta de 2 mm (Radionics, Burlington, Massachussets). Con la estimulación de alta frecuencia del electrodo (75 Hz) se pueden provocar respuestas paraestéticas en el antebrazo y la mano a 0,5-1,0 V usando un generador de lesión Radionics (Radionics Radiofrequency Lesion Generator Model RFG3AV). A baja frecuencia (5 Hz) se produce la activación o interrupción del temblor en el miembro afectado a 2-3 V. Con los procedimientos de la presente invención, el electrodo no se usa para crear una lesión.

25 Tras la confirmación de la localización del tejido diana, se puede inyectar una neurotoxina, produciendo por tanto una desnervación química reversible de las neuronas del emplazamiento diana. Una inyección típica tiene el número deseado de unidades (es decir, aproximadamente 0,1 a aproximadamente 5 unidades de un complejo de toxina botulínica de tipo A en aproximadamente 0,1 ml a aproximadamente 0,5 ml de agua o solución salina). Se puede usar un volumen bajo de inyección para minimizar la difusión de la toxina lejos de la diana. Normalmente se puede esperar que el efecto de liberación del neurotransmisor desaparezca en aproximadamente 2-4 meses. De esta manera, se puede usar un formato alternativo de neurotoxina, una neurotoxina incorporada en el interior de un implante polimérico, para proporcionar una liberación continua controlada de una cantidad terapéutica de la toxina en la localización deseada durante un período prolongado (es decir, entre aproximadamente 1 año y aproximadamente 6 años), obviando por tanto la necesidad de inyecciones repetidas de toxina.

35 Se pueden usar diversos procedimientos para guiar estereotácticamente la inyección de una neurotoxina a diversas dianas intracraneales, tales como los núcleos pedúnculo pontinos, para disminuir la neurotransmisión colinérgica, o el área tegmental ventral para disminuir la liberación de dopamina para aliviar los síntomas positivos de un trastorno neuropsiquiátrico, se puede usar un procedimiento de formación de imagen por resonancia magnética estereotáctica (IRM) que se basa en imágenes en tres dimensiones (3D) ponderadas en T1 para la planificación quirúrgica e imágenes multiplanares ponderadas en T2 para la visualización directa de los núcleos pedúnculo pontinos del área tegmental ventral, acopladas con el registro electrofisiológico y la dirección de la inyección para la inyección STN unilateral o bilateral. Véase por ejemplo, Bejjani, B. P. y col., *Bilateral Subthalamic Stimulation for Parkinson's Disease by Using Three-Dimensional Stereotactic Magnetic Resonance Imaging and Electrophysiological Guidance*, J Neurosurg 92(4); 615-25;2000.

45 Se puede usar metodología de neurocirugía funcional guiada por ordenador basada en atlas para inyectar de manera fiable y precisa la neurotoxina deseada o implantar un implante de neurotoxina de liberación controlada. Dichas metodologías permiten la exposición tridimensional y la manipulación en tiempo real de las estructuras cerebrales. La planificación neuroquirúrgica con múltiples atlas cerebrales prerregistrados en las tres orientaciones ortogonales es por tanto posible y permite el aumento de la fiabilidad en la definición de la diana para la inyección o implante de la neurotoxina reduciendo del tiempo del procedimiento quirúrgico disminuyendo el número de trectos y facilitando la planificación de las trayectorias más sofisticadas. Véase por ejemplo, Nowinski W. L. y col., *Computer-Aided Stereotactic Functional Neurosurgery Enhanced by the Use of the Multiple Brain Atlas Database*, IEEE Trans Med Imaging 19(1);62-69;2000.

55 Ejemplo 2

Tratamiento de la esquizofrenia con toxina botulínica de tipo A

60 Un varón adulto de 48 años de edad que presenta reducción en la motivación e interés en la vida diaria. El paciente indica que escucha voces. Se vigila al paciente regularmente durante seis meses. Los síntomas empeoran gradualmente a lo largo del período de vigilancia, y se diagnostica al paciente esquizofrenia. Usando el escáner TAC o la estereotaxis asistida por IRM, tal como se muestra en el Ejemplo 1 anterior, se inyectan 2 unidades de una toxina botulínica de tipo A en el núcleo pedúnculo pontino. Se da de alta al paciente a las 48 horas y en unos pocos días (1-7) disfruta de una mejora significativa de los síntomas positivos de la esquizofrenia. Los síntomas positivos de la esquizofrenia permanecen significativamente aliviados entre aproximadamente 2 y aproximadamente 6 meses. Para un alivio terapéutico prolongado se pueden colocar uno o más implantes poliméricos que incorporan una cantidad adecuada de una toxina botulínica de tipo A en el emplazamiento del tejido diana.

ES 2 314 193 T3

Ejemplo 3

Tratamiento de la esquizofrenia con toxina botulínica de tipo B

5 Una mujer de 68 años de edad anteriormente diagnosticada y tratada de esquizofrenia desea intentar un nuevo tratamiento terapéutico. Solicita consejo de un médico que le recomienda la terapia con toxina botulínica. Usando el escáner de TAC o la estereotaxis asistida por IRM, tal como se muestra en el Ejemplo 1 anterior, se le inyectan entre 10 y aproximadamente 50 unidades de una preparación de toxina botulínica de tipo B (tal como Neurobloc® o Innervate™) en los núcleos pedúnculopontinos. Se da de alta a la paciente a las 48 horas y en unos pocos días (1-7) disfruta de una mejora significativa de los síntomas positivos. Sus alucinaciones desaparecen casi completamente. Los síntomas positivos permanecen significativamente aliviados entre aproximadamente 2 y aproximadamente 6 meses. Para un alivio terapéutico extendido, se pueden colocar uno o más implantes poliméricos que incorporan una cantidad adecuada de una toxina botulínica de tipo B en el emplazamiento del tejido diana.

15

Ejemplo 4

Tratamiento de la esquizofrenia con toxinas botulínicas de los tipos C₁-G

20 Se ingresó a una mujer de 71 años de edad con trastorno en los modelos de pensamiento y que padecía de alucinaciones auditivas y visuales. Se le inyectaron entre 0,1 y 100 unidades de una toxina botulínica de tipo C₁, D, E, F o G en los núcleos pedúnculopontinos para desnervar químicamente la proyección colinérgica excitadora en el área tegmental ventral. Se usó el escáner de TAC o la estereotaxis asistida por IRM, tal como se muestra en el Ejemplo 1 anterior, complementada con ventriculografía. Se dio de alta a la paciente a las 48 horas y en unos pocos días (1-7) disfrutó de una remisión significativa de los temblores, que permanecieron significativamente aliviados entre aproximadamente 2 y aproximadamente 6 meses. Para un alivio terapéutico extendido se pueden colocar uno o más implantes poliméricos que incorporan una cantidad adecuada de una toxina botulínica de tipo C₁, D, E, F o G en el emplazamiento del tejido diana.

30

Ejemplo 5

Tratamiento de la enfermedad de alzheimer con toxina botulínica de tipo A

35 Se ingresó a un varón de 85 años de edad que había experimentado un declive progresivo en la agudeza mental y que no recordaba de manera duradera cómo llevar a cabo tareas sencillas, tales como la limpieza de los dientes o el peinado del pelo. El paciente es por otra parte un hombre sano de 85 años de edad. Se le diagnosticó enfermedad de Alzheimer avanzada.

40 Se puede aplicar un marco estereotáctico adecuado a la cabeza con anestesia local y se puede llevar a cabo la ventriculografía y la IRM estereotáctica. Se pueden determinar las coordenadas estereotácticas de la comisura anterior (CA) y de la comisura posterior (CP) usando el software del ordenador en el escáner. Puede usarse software instalado en PC para volver a dibujar los mapas sagitales del cerebro a partir de los atlas Schaltenbrand y Bailey y Schaltenbrand y Wahren, alargados o encogidos según se necesite respecto a la distancia CA-CP del paciente y normalizados a las coordenadas estereotácticas para la aplicación real del marco a la cabeza del paciente. Se seleccionan los emplazamientos diana, se leen sus coordenadas y se llevan a cabo los ajustes apropiados del marco. Se puede hacer un orificio con trépano o un orificio con barrena en el rostro o la sutura coronal en el mismo plano sagital que la diana. Esto puede facilitar la representación gráfica de los datos fisiológicos usados para la confirmación de la diana ya que las trayectorias del electrodo atraviesan un plano sagital único.

50

Tras la localización por microestimulación del electrodo de aguja que registra/estimula guiada estereotácticamente y por IRM hasta la diana, se puede inyectar un implante de neurotoxina. El implante puede comprender una neurotoxina, tal como una toxina botulínica de tipo A, incorporada en el interior de microesferas poliméricas biodegradables o un aglomerado biodegradable, cualquier formato de implante que contenga aproximadamente 20 unidades totales (aproximadamente 1 ng) de la toxina con características de implante de liberación continua durante un período de al menos aproximadamente cuatro años de un nivel terapéutico de la toxina en el punto del emplazamiento de liberación del implante y para un radio de aproximadamente 2-3 mm en cada lado del *locus ceruleus*. El implante puede liberar aproximadamente 1 unidad de toxina esencialmente de manera inmediata y cantidades adicionales de aproximadamente una unidad de manera acumulativa durante los períodos de 2-4 meses posteriores.

60

Aunque la pérdida de memoria del paciente no se recupera completamente, los síntomas psicóticos que el paciente presentaba se redujeron y permanecieron sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2 meses y aproximadamente 6 meses por inyección de toxina o entre aproximadamente 1 y 5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y de la cantidad de neurotoxina cargada del anterior.

65

ES 2 314 193 T3

Ejemplo 6

Tratamiento de la enfermedad de alzheimer con la toxina botulínica de los tipos B-G

5 El paciente del ejemplo 5 anterior se puede tratar equivalentemente usando el mismo protocolo e hipótesis en la diana del *locus ceruleus* con entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 1000 unidades de una toxina botulínica del tipo B, C₁, D, E, F o G en solución acuosa o en forma de un implante adecuado de neurotoxina. Con dicho tratamiento, los síntomas psicóticos disminuyen en 1-7 días, y permanecen sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2-6 meses por inyección de toxina o durante aproximadamente 1-5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y la cantidad de neurotoxina cargada del anterior.

Ejemplo 7

15 *Tratamiento de la manía con toxina botulínica de tipo A*

Se diagnosticó a un varón de 44 años de edad con trastorno bipolar. Se colocó un implante que contenía toxina botulínica de tipo A en la proximidad del *locus ceruleus* para disminuir la liberación de norepinefrina. El implante puede ser cualquiera de una solución acuosa de toxina botulínica de tipo A incorporada en el interior de microesferas poliméricas biodegradables o un aglomerado biodegradable de toxina botulínica de tipo A, cualquier formato de implante que contenga aproximadamente 20 unidades totales (aproximadamente 1 ng) de la toxina con características de implante de liberación continua durante un período de al menos aproximadamente cuatro años de un nivel terapéutico de la toxina en el punto del emplazamiento de liberación del implante y en aproximadamente 2-3 mm en cada lado. El implante puede liberar aproximadamente 1 unidad de toxina esencialmente de manera inmediata y cantidades adicionales de aproximadamente una unidad de manera acumulativa durante los períodos de 2-4 meses posteriores.

Los síntomas maníacos del paciente pueden disminuir en 1-7 días y pueden permanecer sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2 meses y aproximadamente 6 meses por inyección de toxina o entre aproximadamente 1 y 5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y de la cantidad de neurotoxina cargada del anterior. Notablemente, puede existir una atenuación significativa de las alucinaciones, el paciente tiene un modelo de comportamiento sustancialmente más controlado.

35 Ejemplo 8

Tratamiento de la manía con toxina botulínica de los tipos B-G

El paciente del ejemplo 7 anterior se puede tratar equivalentemente usando el mismo protocolo e hipótesis en la diana con entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 1000 unidades de una toxina botulínica de tipo B, C₁, D, E, F o G en solución acuosa o en forma de un implante adecuado de neurotoxina. Con dicho tratamiento, los síntomas pueden disminuir en 1-7 días, y pueden permanecer sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2-6 meses por inyección de toxina o entre aproximadamente 1 a 5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y de la cantidad de neurotoxina cargada del anterior.

Ejemplo 9

Tratamiento de la ansiedad con toxina botulínica de tipo A

Una paciente de 22 años, diestra, presenta un historial de epilepsia. Basándose en la IRM y un estudio del registro del EEG, se hace un diagnóstico de epilepsia del lóbulo temporal. Se puede insertar un implante que proporciona aproximadamente 5-50 unidades de una neurotoxina (tal como una toxina botulínica de tipo A) en la parte anterior del lóbulo temporal, 5-6 cm desde la punta del lóbulo a lo largo de la mitad de los giros temporales con una aproximación unilateral al hemisferio izquierdo no dominante. Los ataques epilépticos se pueden reducir sustancialmente en aproximadamente 1-7 días, y pueden permanecer sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2 meses y aproximadamente 6 meses por inyección de toxina o entre aproximadamente 1 a 5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y de la cantidad de neurotoxina cargada del anterior.

60 Ejemplo 10

Tratamiento de la ansiedad con toxina botulínica de los tipos B-G

65 La paciente del ejemplo 9 anterior se puede tratar equivalentemente usando el mismo protocolo e hipótesis en la diana con entre aproximadamente 1 unidad y aproximadamente 1000 unidades de una toxina botulínica de tipo B, C₁, D, E, F o G en solución acuosa o en forma de un implante adecuado de neurotoxina. Con dicho tratamiento, los ataques epilépticos pueden disminuir en 1-7 días, y pueden permanecer sustancialmente aliviados entre aproximadamente 2-6

ES 2 314 193 T3

meses por inyección de toxina o entre aproximadamente 1 a 5 años dependiendo de las características concretas de la liberación del polímero del implante y la cantidad de neurotoxina cargada del anterior.

5 Se concluye que la inyección o implante de una neurotoxina de un implante de neurotoxina de liberación controlada según los procedimientos de la presente invención, con la ayuda del diagnóstico por imagen de RM en 3D y guiado electrofisiológico, puede ser una terapia segura y eficaz para los pacientes que padecen diversos trastornos neuropsiquiátricos, tales como esquizofrenia, demencia, o manía. Los pacientes adecuados incluyen aquellos que no son sensibles o se vuelven insensibles a los agentes sistémicos utilizados para tratar dichos trastornos.

10 Un procedimiento intracraneal de administración de una neurotoxina para tratar un trastorno neuropsiquiátrico según la invención descrita en el presente documento tiene muchos beneficios y ventajas, que incluyen las siguientes:

15 1. se pueden reducir drásticamente los síntomas, tales como los síntomas asociados con los sistemas neuronales hiperactivos de un trastorno neuropsiquiátrico.

20 2. se pueden reducir los síntomas de un trastorno neuropsiquiátrico entre aproximadamente dos y aproximadamente cuatro meses por inyección de neurotoxina y entre aproximadamente un año y aproximadamente cinco años tras el uso de un implante de neurotoxina de liberación controlada.

25 3. la neurotoxina inyectada o implantada ejerce una supresión específica en el emplazamiento del tejido diana intracraneal de la actividad neuronal.

30 4. la neurotoxina inyectada o implantada muestra poca o nula tendencia a difundirse o transportarse lejos del emplazamiento de implante o de inyección intracraneal.

35 5. se producen pocos o nulos efectos secundarios indeseables debidos a la inyección o implante intracraneal de la neurotoxina.

40 6. la cantidad de neurotoxina inyectada intracranealmente puede ser considerablemente inferior a la cantidad de la misma neurotoxina requerida por otras rutas de administración (es decir, intramuscular, intraesfínter, oral o parenteral) para conseguir un efecto supresor comparable.

45 7. los efectos supresores de los presentes procedimientos pueden dar como resultado efectos secundarios deseables de mayor movilidad del paciente, una actitud más positiva, y una mejora de la calidad de vida.

50 8. se pueden dosificar dosis terapéuticas elevadas de una neurotoxina en un tejido diana intracraneal durante un período prolongado sin toxicidad sistémica.

55 Aunque la presente invención se ha descrito en detalle con respecto a algunos procedimientos preferidos, son posibles las modificaciones dentro del alcance de la presente invención tal como se reivindica. Adicionalmente, la presente invención incluye procedimientos de administración intracraneal en los que se administran simultánea o consecutivamente dos o más neurotoxinas, tales como dos o más toxinas botulínicas. Por ejemplo, se puede administrar intracranealmente toxina botulínica de tipo A, hasta que se desarrolla una pérdida de respuesta clínica o anticuerpos neutralizantes, seguida por la administración de toxina botulínica de tipo B. Además, se pueden administrar intracranealmente compuestos no de neurotoxina antes de, simultáneamente con o posteriormente a la administración de la neurotoxina para proporcionar un efecto adjunto tal como un comienzo de la supresión mejor o más rápido antes de que la neurotoxina, tal como una toxina botulínica, comience a ejercer su efecto supresor duradero más prolongado.

60 La invención del solicitante incluye también dentro de su alcance el uso de la neurotoxina toxina botulínica en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neuropsiquiátrico, mediante la administración intracraneal de dicha neurotoxina.

55

60

65

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una neurotoxina clostrídica para uso en el tratamiento de un trastorno neuropsiquiátrico en el que dicha neurotoxina clostrídica es para administración intracraneal a un paciente, aliviando por tanto al menos un síntoma de un trastorno neuropsiquiátrico.
- 10 2. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se produce por una bacteria seleccionada entre el grupo constituido por *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum* y *Clostridium beratti*.
- 15 3. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina es una toxina botulínica.
4. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 3, en el que la toxina botulínica se selecciona entre el grupo constituido por toxina botulínica de los tipos A, B, C₁, D, E, F y G.
- 20 5. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 3, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.
6. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 3, en el que la toxina botulínica se administra en una cantidad de entre aproximadamente 10⁻⁴ U/kg y aproximadamente 1 U/kg.
- 25 7. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que el efecto que alivia el síntoma persiste durante entre aproximadamente 1 mes y aproximadamente 5 años.
8. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se administra a una región inferior del cerebro.
- 30 9. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se administra a una región pontina.
10. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se administra a un núcleo pedúnculopontino.
- 35 11. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se administra a un *locus ceruleus*.
12. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina se administra en un área tegmental ventral.
- 40 13. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la neurotoxina es una neurotoxina modificada que inhibe la liberación del neurotransmisor.
- 45 14. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 13, en el que la neurotoxina modificada tiene al menos uno de sus aminoácidos eliminado, modificado o sustituido, en comparación con una neurotoxina nativa.
15. La neurotoxina nativa para uso según la reivindicación 13, en el que la neurotoxina modificada es una neurotoxina producida de manera recombinante o un derivado o fragmento de la misma.
- 50 16. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la etapa de administración intracraneal comprende el implante de un sistema de toxina botulínica de liberación controlada.
17. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la administración de la neurotoxina alivia un síntoma del trastorno neuropsiquiátrico que está asociado con la liberación hiperactiva del neurotransmisor desde las neuronas.
- 55 18. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la administración de la neurotoxina restaura el equilibrio entre al menos dos sistemas neuronales que liberan diferentes neurotransmisores.
- 60 19. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de acetilcolina desde las neuronas colinérgicas.
20. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de dopamina desde las neuronas dopaminérgicas.
- 65 21. La neurotoxina clostrídica para uso según la reivindicación 1, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de norepinefrina desde las neuronas noradrenérgicas.

ES 2 314 193 T3

22. Una toxina botulínica para uso en el tratamiento de un trastorno neuropsiquiátrico, en el que dicha toxina botulínica es para la administración intracraneal de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha toxina botulínica a un paciente, tratando de esta manera un síntoma del trastorno neuropsiquiátrico.

5 23. La toxina botulínica para uso según la reivindicación 22, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.

10 24. La toxina botulínica para uso según la reivindicación 22, en la que el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo constituido por esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, manía, y ansiedad.

25. La toxina botulínica para uso según la reivindicación 22, en el que el síntoma del trastorno neuropsiquiátrico se trata reduciendo la liberación de neurotransmisor desde las neuronas que contribuyen al síntoma del trastorno en el intervalo comprendido dentro de aproximadamente cuatro meses desde la administración de la toxina botulínica.

15 26. La toxina botulínica para uso según la reivindicación 25, en el que el síntoma es un síntoma positivo asociado con el trastorno neuropsiquiátrico.

20 27. Una toxina botulínica para uso en el tratamiento de la esquizofrenia, en el que dicha toxina botulínica es para la administración intracraneal de una cantidad terapéuticamente eficaz de una toxina botulínica a un paciente, tratando por tanto un síntoma positivo de la esquizofrenia.

28. La toxina botulínica para uso según la reivindicación 27, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.

25 29. Uso de una neurotoxina clostrídica para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno neuropsiquiátrico, comprendiendo el tratamiento una etapa de administración intracraneal de dicha neurotoxina clostrídica a un paciente, aliviando por tanto al menos un síntoma de un trastorno neuropsiquiátrico.

30 30. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina se produce mediante una bacteria seleccionada entre el grupo constituido por *Clostridium botulinum*, *Clostridium butyricum* y *Clostridium beratti*.

31. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina es una toxina botulínica.

35 32. El uso de la reivindicación 31, en el que la toxina botulínica se selecciona entre el grupo constituido por la toxina botulínica de los tipos A, B, C₁, D, E, F y G.

33. El uso de la reivindicación 31, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.

40 34. El uso de la reivindicación 31, en el que la toxina botulínica se administra en una cantidad de entre aproximadamente 10^{-4} U/kg y aproximadamente 1 U/kg.

35. El uso de la reivindicación 31, en el que el efecto que alivia el síntoma persiste entre aproximadamente 1 mes y aproximadamente 5 años.

45 36. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina se administra en una región inferior del cerebro.

37. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurona se administra en una región pontina.

38. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina se administra en un núcleo pedúnculo pontino.

50

39. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina se administra en un *locus ceruleus*.

40. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina se administra en un área tegmental ventral.

55 41. El uso de la reivindicación 29, en el que la neurotoxina es una neurotoxina modificada que inhibe la liberación del neurotransmisor.

42. El uso de la reivindicación 41, en el que la neurotoxina modificada tiene al menos uno de sus aminoácidos eliminado, modificado o sustituido, en comparación con una neurotoxina nativa.

60

43. El uso de la reivindicación 41, en el que la neurotoxina modificada es una neurotoxina producida de manera recombinante o un derivado o fragmento de la misma.

65 44. El uso de la reivindicación 41, en el que la etapa de administración intracraneal comprende el implante de un sistema de toxina botulínica de liberación controlada.

45. El uso de la reivindicación 29, en el que la administración de la neurotoxina alivia un síntoma del trastorno neuropsiquiátrico que está asociado con la liberación hiperactiva del neurotransmisor desde las neuronas.

ES 2 314 193 T3

46. El uso de la reivindicación 29, en el que la administración de la neurotoxina restaura el equilibrio entre al menos dos sistemas neuronales que liberan diferentes neurotransmisores.

5 47. El uso de la reivindicación 29, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de acetilcolina desde las neuronas colinérgicas.

48. El uso de la reivindicación 29, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de dopamina desde las neuronas dopaminérgicas.

10 49. El uso de la reivindicación 29, en el que la administración de la neurotoxina disminuye la liberación de norepinefrina desde las neuronas noradrenérgicas.

15 50. Uso de una toxina botulínica para la fabricación de un medicamento para tratar un trastorno neuropsiquiátrico, comprendiendo el tratamiento una etapa de administración intracraneal de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha toxina botulínica a un paciente, tratando por tanto un síntoma del trastorno neuropsiquiátrico.

51. El uso de la reivindicación 50, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.

20 52. El uso de la reivindicación 50, en el que el trastorno psiquiátrico se selecciona entre el grupo constituido por esquizofrenia, enfermedad de Alzheimer, manía y ansiedad.

25 53. El uso de la reivindicación 50, en el que el síntoma del trastorno neuropsiquiátrico se trata reduciendo la liberación del neurotransmisor desde las neuronas que contribuyen al síntoma del trastorno en el intervalo comprendido dentro de aproximadamente cuatro meses desde la administración de la toxina botulínica.

54. El uso de la reivindicación 53, en el que el síntoma es un síntoma positivo asociado con el trastorno neuropsiquiátrico.

30 55. Uso de una toxina botulínica para la fabricación de un medicamento para tratar la esquizofrenia, comprendiendo el tratamiento una etapa de administración intracraneal de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicha toxina botulínica a un paciente, tratando por tanto un síntoma positivo de la esquizofrenia.

56. El uso de la reivindicación 55, en el que la toxina botulínica es toxina botulínica de tipo A.

35

40

45

50

55

60

65