



(19)  
Bundesrepublik Deutschland  
Deutsches Patent- und Markenamt

(10) **DE 699 23 998 T2** 2006.04.27

(12) **Übersetzung der europäischen Patentschrift**

(97) **EP 1 135 105 B1**

(21) Deutsches Aktenzeichen: **699 23 998.2**

(86) PCT-Aktenzeichen: **PCT/US99/29335**

(96) Europäisches Aktenzeichen: **99 966 114.3**

(87) PCT-Veröffentlichungs-Nr.: **WO 00/33814**

(86) PCT-Anmeldetag: **09.12.1999**

(87) Veröffentlichungstag

der PCT-Anmeldung: **15.06.2000**

(97) Erstveröffentlichung durch das EPA: **26.09.2001**

(97) Veröffentlichungstag

der Patenterteilung beim EPA: **02.03.2005**

(47) Veröffentlichungstag im Patentblatt: **27.04.2006**

(51) Int Cl.<sup>8</sup>: **A61K 9/00** (2006.01)

**A61K 38/28** (2006.01)

**A61K 38/30** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

**A61K 31/685** (2006.01)

**A61K 38/18** (2006.01)

(30) Unionspriorität:

**208539 09.12.1998 US**

(73) Patentinhaber:

**Chiron Corp., Emeryville, Calif., US**

(74) Vertreter:

**Patent- und Rechtsanwälte Kraus & Weisert,  
80539 München**

(84) Benannte Vertragsstaaten:

**AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT,  
LI, LU, MC, NL, PT, SE**

(72) Erfinder:

**FREY, H., William, White Bear Lake, US; THORNE,  
Gary, Robert, Minneapolis, US; CHEN, Xueqing, St.  
Paul - Minnesota 55108, US**

(54) Bezeichnung: **VERWENDUNG EINES NEUROLOGISCHEN WIRKSTOFFES ZUR HERSTELLUNG EINES MEDI-  
KAMENTES ZUR BEHANDLUNG VON ERKRANKUNGEN DES ZENTRALEN NERVENSYSTEMS**

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist (Art. 99 (1) Europäisches Patentübereinkommen).

Die Übersetzung ist gemäß Artikel II § 3 Abs. 1 IntPatÜG 1991 vom Patentinhaber eingereicht worden. Sie wurde vom Deutschen Patent- und Markenamt inhaltlich nicht geprüft.

**Beschreibung**

## Gebiet der Erfindung

**[0001]** Die vorliegende Erfindung richtet sich auf die Verwendung bei der Herstellung von Medikamenten zum Transport zu bzw. zur Abgabe an das Zentralnervensystem über ein Gewebe, das vom Drillingsnerv/Trigeminusnerv innerviert wird, das außerhalb der Nasenhöhle liegt. Eine solche Abgabe kann nützlich bei der Behandlung von Funktionsstörungen des Zentralnervensystems und/oder des Gehirns sein.

## Hintergrund der Erfindung

**[0002]** Das Zentralnervensystem (ZNS) umfasst mehrere Gewebe und Organe, wie das Hirn, den Hirnstamm und das Rückenmark. Jedes dieser Organe und Gewebe setzt sich aus verschiedenen Arten von Zellen und subzellulären Strukturen, z.B. Neuronen, Gliazellen, Dendriten, Axonen, Myelin, und verschiedenen Membranen zusammen. Das Zentralnervensystem ist von der äußeren Welt durch mehrere Membranen abgetrennt, die diese Organe, Gewebe, Zellen und Strukturen sowohl polstern als auch schützen. Z.B. schützen die Membranen, die die Blut-Hirn-Schranke bilden, das Hirn vor bestimmten Bestandteilen des Bluts. Die Blut-Liquor-Schranke schützt andere Teile des Zentralnervensystems (ZNS) vor vielen Chemikalien und Mikroben.

**[0003]** Zugang zum ZNS für einige Substanzen wird über spezialisierte aktive Transportsysteme oder über passive Diffusion durch die Schutzmembran in das ZNS gewährt. Derzeitige Verfahren zur Abgabe gewünschter therapeutischer Agentien an das ZNS sind typischerweise invasiv. Z.B. kann eine Pumpe, die in den Schädel implantiert wird (eine Intrazerebroventrikular-Pumpe), eine Vielzahl nützlicher Verbindungen effektiv an das Hirn abgeben. Die Implantation einer solchen Pumpe erfordert jedoch hirnchirurgische Maßnahmen, welche eine Vielzahl schwerer Komplikationen mit sich bringen können. Bestimmte Verbindungen (z.B. epidurale Schmerzmittel) können direkt durch die Schutzmembran in das ZNS injiziert werden. Solch eine Injektion ist jedoch für die meisten Medikationen unmöglich bzw. unpraktisch.

**[0004]** Bessere Verfahren zur Verabreichung gewünschter Mittel an das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark werden benötigt.

**[0005]** Die WO 97/49419 offenbart eine ophthalmische Arzneimittelzusammensetzung, die ein Tetraptid zusammen mit IGF-1 enthält, das für die Behandlung von Hornhauterkrankungen nützlich ist.

**[0006]** Die WO 86/02271 offenbart die Förderung der Wundheilung unter Verwendung von humanem Epidermis-Wachstumsfaktor, der aus rekombinanter DNA vorhergesagt wurde. Die Zusammensetzung kann sowohl bei der Behandlung von Hautwunden als auch der von Hornhautwunden verwendet werden.

**[0007]** Die WO 98/34645 offenbart einen Protein-Antikörper-Komplex, der zur Verabreichung über den intravasalen, sublingualen oder vaginalen Weg geeignet ist.

## Zusammenfassung der Erfindung

**[0008]** Die Erfindung stellt die Verwendung eines neurologischen Mittels bei der Herstellung eines Medikaments zur Abgabe des neurologischen Mittels an das zentrale Nervensystem eines Säugers bereit, der die Behandlung einer Erkrankung des zentralen Nervensystems benötigt, wobei das Medikament in ein Gewebe oder auf ein Gewebe des Säugers verteilt wird, das von dem Trigeminusnerv innerviert ist und außerhalb der Nasenhöhle liegt, wobei das neurologische Mittel ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Neurotrophinen, Nervenwachstumsfaktor (NGF), Neurotrophin 3 (NT-3), Neurotrophin 4 (NT-4), Neurotrophin 5 (NT-5), aus dem Gehirn stammendem neurotrophen Faktor BDNF ("brain-derived neurotrophic factor"), Fibroblasten-Wachstumsfaktoren, basischem Fibroblasten-Wachstumsfaktor, Insulin, Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktoren, Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor I (IGF-I), Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor II (IGF-II), von Glia stammendem neurotrophen Faktor (GDNF), von Glia stammendem Nexin, Gangliosiden, Phosphatidylserin und Kombinationen davon. In bevorzugten Ausführungsformen ist das Gewebe ein Hautgewebe, die Schleimhaut eines unteren oder oberen Augenlides, eine Bindehaut oder ein orales Gewebe, ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus einem Zahnfleischgewebe, den anterior gelegenen zwei Dritteln der Zunge, der Schleimhaut der Wange und der Schleimhaut der oberen oder unteren Lippe.

**[0009]** In einer weiteren Ausführungsform wird eine Zusammensetzung des Mittels unter der Zunge, auf die Haut oder auf die Bindehaut des Patienten verabreicht. Das Mittel kann dann über eine Schleimhaut oder ein

Epithel absorbiert werden und zum Zentralnervensystem des Säugers transportiert werden. Das Mittel kann auf eine Weise verabreicht werden, so dass das Mittel über das Gewebe absorbiert wird und mittels eines neuronalen Wegs in das Zentralnervensystem des Säugers transportiert wird, und zwar in einer wirksamen Menge, um eine Schutzwirkung oder eine therapeutische Wirkung auf eine Zelle des Zentralnervensystems auszuüben.

**[0010]** Die Zusammensetzung kann jede geeignete Form zur Verabreichung über diese Routen besitzen und kann ein Trägermittel umfassen, das die Absorption des Mittels, den Transport des Mittels über einen neuronalen Weg und/oder den Transport des Mittels zum ZNS, Gehirn und/oder Rückenmark erleichtert. Bevorzugte Zusammensetzungen umfassen jeweils einzelne oder mehrere Bestandteile von einem Löslichkeits-verstärkenden Zusatz, einem hydrophilen Zusatz, einem Absorptions-fördernden Zusatz, ein kationisches oberflächenaktives Mittel, einen Viskositäts-erhöhenden Zusatz oder eine Retard-Matrix oder -Zusammensetzung, ein Lipidbasiertes Trägermittel, bevorzugt eine Micellen- oder Liposomen-Zusammensetzung, einen Doppelschicht-destabilisierenden Zusatz oder einen fusogenen Zusatz. Die Zusammensetzung kann als Kosmetikum zum dermalen Auftrag formuliert sein.

**[0011]** Bevorzugte neurologische Mittel umfassen GM-1-Gangliosid, Fibroblasten-Wachstumsfaktor, besonders basischen Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF), Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor, insbesondere Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor I (IGF-I), Nervenwachstumsfaktor (NGF) und Phosphatidylserin.

#### Detaillierte Beschreibung der Erfindung

##### Verabreichungswege

##### Struktur und Lage des Trigeminiernervs

**[0012]** Das Mittel kann auf Gewebe verabreicht werden, das durch den Trigeminiernerv innerviert wird und außerhalb der Nasenhöhle liegt. Der Trigeminiernerv innerviert Gewebe vom Kopf eines Säugers (z.B. eines Menschen), einschließlich der Gesichtshaut, der Kopfhaut, oraler Gewebe und Gewebe des Auges und solche, die das Auge umgeben. Der Trigeminiernerv besitzt drei Hauptäste, den Nervus ophthalmicus, den Nervus maxillaris und den Nervus mandibularis. Das Mittel kann auf Gewebe verabreicht werden, das von einem oder von mehreren dieser Äste innerviert wird. Von dort gelangt das Mittel in das ZNS.

##### Der Nervus ophthalmicus und seine Äste

**[0013]** Das Mittel kann auf Gewebe verabreicht werden, das vom Ophthalmicus-Nervenast des Trigeminiernervs innerviert wird. Der Ophthalmicusnerv innerviert Gewebe, umfassend oberflächliche und tiefe Teile der superioren Region des Gesichts, wie das Auge, die Tränendrüse, die Bindehaut und Kopfhaut, Stirn, oberes Augenlid und Nase. Von dort erreicht das Mittel das ZNS.

**[0014]** Der ophthalmische Nerv hat drei Äste, die als Nasoziliarnerv, Frontalnerv und Lacrimalisnerv bekannt sind. Das Mittel kann auf Gewebe verabreicht werden, das von einem oder mehreren Ästen des ophthalmischen Nervs innerviert wird. Der Frontalnerv und seine Äste innervieren Gewebe, einschließlich des oberen Augenlids, der Kopfhaut, insbesondere den vorderen Teil der Kopfhaut, und die Stirn, insbesondere den mittleren Teil der Stirn. Bevorzugt wird das Mittel über den Frontalnerv verabreicht. Der Nasoziliarnerv bildet mehrere Äste, einschließlich des langen Ziliarnervs, der ganglionischen Äste, der Ethmoidalnerven und des Infratrochlearnervs. Die langen Ziliarnerven innervieren Gewebe, einschließlich des Augapfels. Bevorzugt wird das Mittel über die langen Ziliarnerven verabreicht. Die posterioren und anterioren Ethmoidalnerven innervieren Gewebe, einschließlich des Ethmoidalsinus und der Nasenhöhle. Der externe nasale Ast des anterioren Ethmoidalnervs innerviert die Spitze der Nase. Der Infratrochlearnerv innerviert Gewebe, einschließlich des oberen Augenlids und des Tränensacks. Bevorzugt wird das Mittel über den langen Ziliarnerv, den externen nasalen Ast des anterioren Ethmoidalnervs und/oder den Infratrochlearnerv verabreicht. Besonders bevorzugt wird das Mittel über den externen nasalen Ast des anterioren Ethmoidalnervs oder des Infratrochlearnervs verabreicht. Bevorzugter geschieht die Verabreichung über den Infratrochlearnerv. Der Lacrimalisnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Tränendrüse, der Bindehaut und des oberen Augenlids. Bevorzugt geschieht die Verabreichung des Mittels über den Lacrimalisnerv.

##### Der Nervus maxillaris und seine Äste

**[0015]** Das Mittel kann über Gewebe verabreicht werden, das vom Maxillaris-Nervenast des Trigeminiernervs

innerviert wird. Der Nervus maxillaris innerviert Gewebe, einschließlich der Wurzeln mehrerer Zähne und der Gesichtshaut, wie die Haut der Nase, die obere Lippe, das untere Augenlid, über dem Wangenknochen und über der Temporalisregion. Der Maxillarisnerv besitzt Äste, einschließlich des Infraorbitalnervs, des Zygomaticofacialnervs, des Zygomaticotemporalnervs, des Nasopalatininervs, des größeren Palatininervs, der posterior-superioren Alveolarnerven, des mittleren superioren Alveolarnervs und des anterior-superioren Alveolarnervs. Das Mittel kann über Gewebe verabreicht werden, das von einem oder mehreren Ästen des Maxillarisnervs innerviert wird. Von dort erreicht das Mittel das ZNS.

**[0016]** Der Infraorbitalnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Haut der Nasenseiten, der oberen Lippe und des unteren Augenlids. Bevorzugt wird das Mittel über den Infraorbitalnerv verabreicht. Der Zygomaticofacialnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Haut des Gesichts über dem zygomatischen Knochen (Wangenknochen). Bevorzugt wird das Mittel über den Zygomaticofacialnerv verabreicht. Der Zygomaticotemporalnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Haut über der Temporalisregion. Das Mittel kann über den Zygomaticotemporalnerv verabreicht werden. Die posterior-superioren Alveolarnerven innervieren Gewebe, einschließlich des Maxillarsinus und der Wurzeln der maxillaren molaren Zähne. Das Mittel kann über die posterior-superioren Alveolarnerven verabreicht werden, bevorzugt über Teile, die die Wurzeln der maxillaren molaren Zähne innervieren. Der mittlere superiore Alveolarnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Schleimhaut des Maxillarsinus, die Wurzeln der maxillaren prämolaren Zähne und die mesiobukkale Wurzel des ersten molaren Zahns. Das Mittel kann über die mittleren superioren Alveolarnerven verabreicht werden, bevorzugt über Teile, die die Wurzeln der maxillaren prämolaren Zähne und die mesiobukkale Wurzel des ersten molaren Zahns innervieren. Der anterior-superiore Alveolarnerv innerviert Gewebe, einschließlich des Maxillarsinus, der Nasenscheidewand und der Wurzeln der maxillaren zentralen und seitlichen Schneidezähne und Eckzähne. Das Mittel kann über den anterior-superioren Alveolarnerv verabreicht werden, bevorzugt über Teile, die die Wurzeln der maxillaren zentralen und seitlichen Schneidezähne und Eckzähne innervieren.

#### Der Mandibularnerv und seine Äste

**[0017]** Das Mittel kann über Gewebe verabreicht werden, das durch den Mandibular-Nervenast des Trigeminusnervs innerviert wird. Der Mandibularnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Zähne, des Zahnfleisches, des Bodens der Mundhöhle, der Zunge, der Wange, des Kinns, der unteren Lippe, Gewebe im Ohr und um das Ohr herum, die Kaumuskeln und Haut, einschließlich der Temporalisregion, des seitlichen Teils der Kopfhaut und den größten Teil des unteren Teils des Gesichtes. Bevorzugt wird das Mittel über den Mandibularnerv verabreicht. Von dort gelangt das Mittel zum ZNS.

**[0018]** Der Mandibularnerv weist Äste auf, einschließlich des Bukkalnervs, des Auriculotemporalnervs, des unteren Alveolarnervs und des Lingualnervs. Mittels des erfindungsgemäßen Verfahrens kann das Mittel über einen oder mehrere der Äste des Mandibularnervs verabreicht werden. Der Bukkalnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Wange, insbesondere die Haut der Wange über dem Bukkinatormuskel, und die Schleimhautmembran, die die Wange auskleidet, und das mandibular-bukkale Zahnfleisch, insbesondere den posterioren Teil der bukkalen Oberfläche des Zahnfleisches. Bevorzugt wird das Mittel über den Bukkalnerv verabreicht. Der Auriculotemporalnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Ohrmuschel, des äußeren Gehörgangs, der Membrana tympani (Trommelfell), und Haut in der Temporalisregion, insbesondere die Haut an der Schläfe und den seitlichen Teilen der Kopfhaut. Das Mittel kann über den Auriculotemporalnerv verabreicht werden. Der untere Alveolarnerv innerviert Gewebe, einschließlich der mandibularen Zähne, insbesondere die Schneidezähne, das Zahnfleisch neben dem Schneidezahn, die Schleimhäute der unteren Lippe, die Haut des Kinns, die Haut der unteren Lippe und die Lippen-Mandibular-Zahnfleischregion. Bevorzugt wird das Mittel über den unteren Alveolarnerv verabreicht. Der Lingualnerv innerviert Gewebe, einschließlich der Zunge, insbesondere die anterior gelegenen zwei Drittel der Zunge, den Mundboden und das Zahnfleisch der mandibularen Zähne. Bevorzugt wird das Mittel über den Lingualnerv verabreicht.

#### Gewebe, die vom Trigeminusnerv innerviert werden

**[0019]** Das Mittel kann über jedes einer Vielzahl von Geweben, welche vom Trigeminusnerv innerviert werden, verabreicht werden. Z.B. kann das Mittel auf die Haut, das Epithel oder Schleimhäute des Gesichtes oder um das Gesicht herum, des Auges, der Mundhöhle oder des Ohres verabreicht werden.

**[0020]** Bevorzugt wird das Mittel über Haut verabreicht, die vom Trigeminusnerv innerviert wird. Z.B. kann das Mittel über Gesichtshaut, Kopfhaut oder die Temporalisregion verabreicht werden. Geeignete Gesichtshaut schließt die Haut des Kinns, der oberen Lippe, der unteren Lippe, der Stirn, insbesondere des mittleren Teils der Stirn, der Nase, einschließlich der Nasenspitze, des Nasenrückens und der Nasenseitenflächen; der Wan-

ge, insbesondere der Haut der Wange über dem Bukkinatormuskel oder der Haut über dem Wangenknochen; der Haut um das Auge herum, insbesondere des oberen Augenlides und des unteren Augenlides; oder eine Kombination davon, ein. Geeignete Haut der Kopfhaut umfasst die vordere Seite der Kopfhaut, die Kopfhaut über der Temporalisregion, den seitlichen Teil der Kopfhaut oder eine Kombination davon; geeignete Haut der Temporalisregion umfasst die Schläfen und die Kopfhaut über der Temporalisregion. Geeignete Regionen der Haut zum Verabreichen des Mittels umfassen jene Teile, die dem Trigeminusnerv und seinen Nervenendigungen am nächsten liegen.

**[0021]** Bevorzugt wird das Mittel über Schleimhaut oder Epithel, welche bzw. welches vom Trigeminusnerv innerviert wird, verabreicht. Z.B. kann das Mittel über Schleimhäute oder Epithel des Auges, oder von solchen, die das Auge umgeben, wie Schleimhaut oder Epithel des oberen Augenlides, des unteren Augenlides, der Augäpfel, der Bindehaut, des Tränensystems oder eine Kombination daraus, verabreicht werden. Das Mittel kann auch über Schleimhaut oder Epithel der Mundhöhle verabreicht werden, wie Schleimhaut oder Epithel der Zunge; insbesondere der anterior gelegenen zwei Drittel der Zunge und unter der Zunge; der Wange; der unteren Lippe; der oberen Lippe; des Mundhöhlenbodens; des Zahnfleisches, insbesondere des Zahnfleisches neben dem Schneidezahn, des labial-mandibularen Zahnfleisches und des Zahnfleisches der mandibularen Zähne; oder eine Kombination daraus. Bevorzugte Regionen von Schleimhaut oder Epithel zum Verabreichen des Mittels umfassen die Zunge, insbesondere sublinguale Schleimhaut oder sublinguales Epithel, die Bindehaut, das Tränensystem, insbesondere den Augenlid-Teil der Tränendrüse und die Nasolacrimalgänge, die Schleimhaut des unteren Augenlides, die Schleimhaut der Wange, oder eine Kombination davon.

**[0022]** Bevorzugt wird das Mittel über orale Gewebe verabreicht, die vom Trigeminusnerv innerviert werden. Z.B. kann das Mittel über orale Gewebe, wie die Zähne, das Zahnfleisch, den Mundhöhlenboden, die Wangen, die Lippen, die Zunge, insbesondere die zwei anterior gelegenen zwei Drittel der Zunge, oder eine Kombination daraus, verabreicht werden. Geeignete Zähne umfassen die mandibularen Zähne, wie beispielsweise den Schneidezahn. Geeignete Teile der Zähne umfassen die Wurzeln verschiedener Zähne, wie die Wurzeln der maxillaren molaren Zähne, die maxillaren prämolaren Zähne, die maxillaren zentralen und seitlichen Schneidezähne, die Eckzähne und die mesiobukkale Wurzel des ersten molaren Zahns, oder eine Kombination davon. Geeignete Teile der Lippen umfassen die Haut und Schleimhäute der unteren und oberen Lippen. Geeignetes Zahnfleisch umfasst das Zahnfleisch neben dem Schneidezahn, das Zahnfleisch der mandibularen Zähne, wie das labial-mandibulare Zahnfleisch, oder eine Kombination davon. Geeignete Teile der Wange umfassen die Haut der Wange über dem Bukkinatormuskel, die Schleimhautmembran, die die Wange auskleidet, und das mandibular-bukkale Zahnfleisch, insbesondere der posterior gelegene Teil der bukkalen Oberfläche des Zahnfleisches, oder eine Kombination davon. Bevorzugtes orales Gewebe zum Verabreichen des Mittels umfasst die Zunge, insbesondere sublinguale Schleimhäute oder Epithel, die Schleimhäute innerhalb der unteren Lippe, die Schleimhaut der Wange, oder eine Kombination davon.

**[0023]** Bevorzugt wird das Mittel über ein Gewebe des Auges oder ein Gewebe um das Auge herum, welches vom Trigeminusnerv innerviert wird, verabreicht. Z.B. kann das Mittel über Gewebe, einschließlich des Auges, der Bindehaut, der Tränendrüse, einschließlich des Tränensacks, der Nasolacrimalgänge, der Haut oder der Schleimhaut des unteren oder oberen Augenlides, oder eine Kombination davon, verabreicht werden. Bevorzugtes Gewebe des Auges oder um das Auge herum zum Verabreichen des Mittels umfasst die Bindehaut, das Lacrimalsystem, die Haut oder Schleimhaut des Augenlides oder eine Kombination davon.

**[0024]** Ein Mittel, das über die Bindehaut verabreicht wird, aber durch die Bindehautschleimhaut nicht absorbiert wird, kann über die Nasolacrimalgänge in die Nase abfließen, wo es zum ZNS, Gehirn und/oder zum Rückenmark transportiert werden kann, als ob es intranasal verabreicht worden wäre.

**[0025]** Bevorzugt wird das Mittel über ein Gewebe des Ohres oder ein Gewebe um das Ohr herum, welches vom Trigeminusnerv innerviert wird, verabreicht. Z.B. kann das Mittel über Gewebe, einschließlich der Ohrmuschel, des äußeren Gehörgangs, der tympanischen Membran (Trommelfell) und der Haut in der Temporalisregion, besonders der Haut der Schläfen und des seitlichen Teils der Kopfhaut oder einer Kombination daraus, verabreicht werden. Bevorzugtes Gewebe des Ohres oder um das Ohr herum zum Verabreichen des Mittels umfasst die Haut der Schläfen.

**[0026]** Das Mittel kann über jeden einer Vielzahl von Ästen des Trigeminusnervs, und Äste von diesen Ästen, die Gewebe außerhalb der Nasenhöhle innervieren, verabreicht werden. Äste des Trigeminusnervs, die Gewebe außerhalb der Nasenhöhle innervieren, umfassen den ophthalmischen Nerv, den Maxillarnerv und den Mandibularnerv.

**[0027]** Äste des ophthalmischen Nervenastes des Trigeminusnervs, die Gewebe außerhalb der Nasenhöhle innervieren, umfassen den Nasoziliarnerv, den Frontalnerv und den Lacrimalnerv. Bevorzugt wird das Mittel über den Frontalnerv und/oder den Lacrimalnerv verabreicht. Bevorzugt wird das Mittel über einen Ast des Nasoziliarnervs, wie den langen Ziliarnerv, den äußeren Nasenast des anterioren Ethmoidalnervs und/oder des Infratrochlearnervs verabreicht, insbesondere den externen nasalen Ast des anterioren Ethmoidalnervs und/oder den Infratrochlearnerv, und noch bevorzugter den Infratrochlearnerv.

**[0028]** Äste des maxillaren Nervenastes des Trigeminusnervs, die Gewebe außerhalb der Nasenhöhle innervieren, umfassen den Infraorbitalnerv, den Zygomaticofacialnerv, den Zygomaticotemporalnerv, die posterior-superioren Alveolarnerven, den mittleren superioren Alveolarnerv und den anterior-superioren Alveolarnerv. Bevorzugt wird das Mittel über den Infraorbitalnerv, den Zygomaticofacialnerv, Teile der posterior-superioren Alveolarnerven, die die Wurzeln der maxillaren molaren Zähne innervieren, Teile der mittleren superioren Alveolarnerven, die die Wurzeln der maxillaren prämolaren Zähne innervieren, und die mesiobukkale Wurzel des ersten molaren Zahns, Teile des anterior-superioren Alveolarnervs, der die Wurzeln der maxillaren zentralen und seitlichen Schneidezähne und Eckzähne innerviert, oder eine Kombination daraus, verabreicht.

**[0029]** Äste des mandibularen Nervenastes des Trigeminusnervs, die Gewebe außerhalb der Nasenhöhle innervieren, umfassen den Bukkalnerv, den Auriculotemporalnerv, den unteren Alveolarnerv und den Lingualisnerv. Bevorzugt wird das Mittel über den bukkalen Nerv, den unteren Alveolarnerv und/oder den Lingualnerv verabreicht.

**[0030]** Bevorzugt wird das Mittel über die Haut oder die Schleimhaut oder das Epithel der Zunge, des Mundes oder der Bindehaut verabreicht. Bevorzugt geschieht die Verabreichung des Mittels unter der Zunge, auf die Haut oder auf die Bindehaut eines Patienten für den Transport des Mittels zum bzw. die Abgabe an das Zentralnervensystem (ZNS) oder Gehirn des Patienten. Erfindungsgemäß kann ein Mittel z.B. über orale, linguale und/oder Bindehautschleimhaut und/oder -epithel verabreicht werden; oder über die Haut des Gesichts, der Stirn, des oberen Augenlides, des unteren Augenlides, die Seiten der Nase, der oberen Lippe, der Wange, des Kinns, der Kopfhaut und der Zähne.

**[0031]** Die Verabreichung kann die Bewegung eines Mittels in ein Gewebe hinein oder durch ein Gewebe hindurch umfassen und, z.B., auch entlang eines neuralen Wegs zum ZNS, in perivaskuläre Kanäle und in prä-lymphatische Kanäle oder Lymphgänge, welche mit dem Gehirn und dem Rückenmark verbunden sind. Bestimmte Mittel können in die Gehirn-Rückenmarkflüssigkeit eintreten und dann oder auch in das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark eintreten. Die Verabreichung kann das Mittel an einen oder an mehrere Teile des ZNS oder des Gehirns abgeben, einschließlich: ein Cerebellum, einen Hirnstamm, ein Rückenmark, eine Hippocampusformation, einen Mandelkern, einen Nucleus basalis nach Meynert, einen Locus ceruleus, eine Meninge, eine Kortex- oder subkortikale Struktur, einen olfaktorischen Bulbus, ein parenchymatisches Gewebe eines olfaktorischen Bulbus, ein Mittelhirn, ein Diencephalon, eine Medulla, eine ventrale Dura, Hirnstamm-Raphe-Nuclei (Hirnstammraphekerne), und ähnliches. Typischerweise wird das Mittel zur Diagnose, Prävention oder Behandlung von Krankheiten des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks verabreicht.

**[0032]** In einer Ausführungsform wird das Mittel alleine über ein Gewebe verabreicht, das vom Trigeminusnerv innerviert wird. Bei diesem Beispiel können die chemischen Charakteristika des Mittels selbst seinen Transport zu erkrankten oder geschädigten Neuronen oder Zellen im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark erleichtern. Alternativ dazu kann das Mittel mit anderen Substanzen kombiniert werden, die den Transport des Mittels zu Orten beschädigter Neuronen unterstützen. Es ist bevorzugt, dass Hilfssubstanzen in der Lage sind, das Mittel zu peripheren sensorischen Neuronen oder an neuronalen Wegen entlang zu gestörten Bereichen des Zentralnervensystems zu transportieren.

**[0033]** Die Verabreichung des Mittels geschieht über Gewebe, die vom Trigeminusnerv innerviert werden und außerhalb der Nasenhöhle liegen. Gewebe, die vom Trigeminusnerv innerviert werden und außerhalb der Nasenhöhle liegen, können als extranasale Gewebe, die vom Trigeminusnerv innerviert werden, oder als extranasale Gewebe, die den Trigeminusnerv umgeben, bezeichnet werden. Ganz ähnlich kann Epithel außerhalb der Nasenhöhle hier als extranasales Epithel bezeichnet werden, Schleimhaut außerhalb der Nasenhöhle kann hier als extranasale Schleimhaut bezeichnet werden, und Haut oder Hautgewebe außerhalb der Nasenhöhle kann hier als extranasale Haut oder extranasales Hautgewebe bezeichnet werden.

#### Mittel für den Transport zum Zentralnervensystem

**[0034]** Eine Vielzahl neurologischer Mittel kann unter Verwendung der vorliegenden Erfindung an das Zen-

tralnervensystem verabreicht werden. Allgemein kann die Erfindung verwendet werden, um die neurologischen Mittel zu verabreichen, die in Anspruch 1 aufgelistet sind, welche zur Diagnose, Prävention oder Behandlung einer Erkrankung oder einer Funktionsstörung, die das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark beeinträchtigt, verwendet werden können; welche eine Zelle oder ein Gewebe im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark ernähren oder erhalten können; welche den Abbau von einer Zelle oder von einem Gewebe im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark verhindern oder inhibieren können; welche die Genexpression in einer Zelle oder in einem Gewebe im ZNS, Gehirn und/oder Rückenmark ändern können; welche die funktionelle Aktivität einer Zelle oder eines Gewebes im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark regulieren können; welche das Wachstum einer Zelle oder eines Gewebes im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark regulieren können; oder Ähnliches.

**[0035]** Bestimmte Mittel werden nicht oder nur schwach über die Blut-Hirn-Schranke transportiert. Bei solchen Mitteln wird eine wirksame Menge des Mittels nicht einfach oder niemals die Blut-Hirn-Schranke überschreiten. Die vorliegende Erfindung kann verwendet werden, um solche Mittel wirksam zum ZNS, Gehirn und/oder zum Rückenmark zu transportieren.

**[0036]** Die Verabreichung von Mitteln kann das Mittel effektiver zum ZNS, Gehirn und/oder Rückenmark transportieren, kann die Menge an verabreichtem Mittel außerhalb des ZNS, Gehirns und/oder Rückenmarks herabsetzen und bevorzugt die unerwünschten systemischen Wirkungen des Mittels vermindern. Eine effektivere oder effizientere Abgabe des Mittels an das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark kann die Gesamtdosis des verabreichten Mittels herabsetzen. Alternativ dazu kann solch eine effektive Abgabe des Mittels die Menge an Mittel herabsetzen, welche unerwünschte Ziele innerhalb des Patienten, aber außerhalb des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks erreicht. Diese effektivere Abgabe führt zu weniger Mittel an Stellen innerhalb des Patienten, an denen es unerwünschte Wirkungen aufweisen kann.

**[0037]** Lipophilität ist eine weitere bevorzugte Eigenschaft eines Mittels. Es ist bevorzugt, dass das Mittel lipophil ist, um die Absorption in Oberflächengewebe, wie orale oder Bindehautepithelien oder -haut, oder entlang eines Neurons, wie beispielsweise eines Trigeminusneurons, zu fördern. Ein bevorzugtes Mittel ist zumindest teilweise löslich in Flüssigkeiten, die die Enden ("termini") des Trigeminusnervs umgeben, um in das Trigeminusneuron und seine angegliederten lymphatischen und/oder perivaskulären Kanäle absorbiert zu werden, löslich in Flüssigkeiten, die von den Schleimhautmembranen sezerniert werden, die die Neuronen umgeben, die in der oralen oder Bindehautschleimhaut liegen, oder ähnlich.

**[0038]** Ein bevorzugtes Mittel kann den Abbau einer Zelle oder eines Gewebes des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks verhindern oder inhibieren. Solch ein Mittel kann dadurch wirken, dass es oxidativen Stress oder Schädigung durch freie Radikale verhindert oder inhibiert.

#### Neurologische Mittel

**[0039]** Neurologische Mittel werden unter Verwendung der vorliegenden Erfindung verabreicht. Ein neurologisches Mittel, das erfindungsgemäß verwendet wird, kann jede Substanz sein, die die Funktion oder das Überleben von Neuronen fördert und den Verlust oder den weiteren Verlust von Nervenzellen verhindert. Z.B. kann ein bevorzugtes neurologisches Mittel das Wachstum von Nerven- oder Gliazellen fördern, das Überleben funktionierender Zellen fördern, die Aktivität funktionierender Zellen unterstützen, die Synthese von Neurotransmittersubstanzen erhöhen, die Aktivität natürlich vorkommender Nervenwachstumsfördernder Faktoren unterstützen, als Nervenwachstumsfördernder Faktor agieren, die Degeneration von Neuronen verhindern, das Neuwachstum von Dendriten und Axonen induzieren, mehr als eine dieser Eigenschaften besitzen, oder Ähnliches. Ein bevorzugtes neurologisches Mittel ist ein neurotrophischer und/oder neuritogener Faktor, der einer natürlich vorkommenden Nervenwachstumsfördernden Substanz ähnlich ist. Viele solcher neurologischer Mittel sind dem Fachmann bekannt.

**[0040]** Die neurologischen Mittel sind ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Neurotrophen, wie Nervenwachstumsfaktor (NGF), Neurotrophen 3, 4 und/oder 5 (NT-3, NT-4 und/oder NT-5), aus dem Gehirn stammendem neurotrophen Faktor (BDNF), Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (FGFs, z.B. basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor), Insulin, Insulinähnlichen Wachstumsfaktoren (IGFs, z.B. IGF-I und/oder IGF-II), von Glia stammendem neurotrophen Faktor (GDNF), von Glia stammendem Nexin, einem Gangliosid (z.B. GM-1-Gangliosid), einem Phosphatidylserin (PS) und Kombinationen daraus. GM-1-Gangliosid, Fibroblasten-Wachstumsfaktor, insbesondere basischer Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF), Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor, insbesondere Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I (IGF-I), Nervenwachstumsfaktor (NGF), sind besonders bevorzugt.

**[0041]** Bestimmte neurologische Mittel werden nicht oder nur schwach über die Blut-Hirn-Schranke hinwegtransportiert. Bei solchen Mitteln überschreitet eine wirksame Menge des neurologischen Mittels nicht einfach oder nie die Blut-Hirn-Schranke. Das vorliegende Verfahren kann effektiv solche neurologischen Mittel zum ZNS, Gehirn und/oder zum Rückenmark transportieren.

**[0042]** Die Verabreichung neurologischer Mittel unter Verwendung der Erfindung kann das Mittel effektiver zum ZNS, Gehirn und/oder zum Rückenmark transportieren, kann die Menge an Mittel außerhalb des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks herabsetzen und kann bevorzugt die unerwünschten systemischen Wirkungen des Mittels vermindern. Ein effektiverer oder effizienterer Transport des neurologischen Mittels zum ZNS, Gehirn und/oder zum Rückenmark kann die Gesamtdosis des verabreichten Mittels vermindern. Alternativ dazu kann solch ein effektiver Transport des Mittels die Menge an Mittel, welche unerwünschte Ziele innerhalb des Patienten, aber außerhalb des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks erreicht, vermindern. Dieser effizientere Transport führt zu weniger Mittel an Stellen innerhalb des Patienten, an denen es unerwünschte Wirkungen haben kann.

**[0043]** Eine weitere bevorzugte Eigenschaft für ein neurologisches Mittel ist die, dass es seine Bewegung in das ZNS erleichtert. Solche neurologischen Mittel werden typischerweise leicht in Nervenzellmembranen eingebaut oder haben eine Affinität für Nervenzell-Rezeptorstellen. Solch ein Mittel wird typischerweise natürlich in Geweben synthetisiert als Reaktion auf neurale Stimulation und bindet anschließend an Rezeptoren auf Neuronen, wo es als Nervenwachstums-fördernder Faktor fungiert.

**[0044]** Die Lipophilität ist noch eine weitere bevorzugte Eigenschaft eines neurologischen Mittels. Es ist bevorzugt, dass das neurologische Mittel lipophil ist, um die Absorption in Oberflächengewebe, wie beispielsweise orales oder Bindehautepithel oder -haut; und entlang eines Neurons, wie des Trigeminusneurons, zu fördern. Ein bevorzugtes neurologisches Mittel ist zumindest teilweise löslich in Flüssigkeiten, die die Enden ("termini") des Trigeminusnervs umgeben, um in den Trigeminusnerv und seine zugehörigen lymphatischen Kanäle absorbiert zu werden, löslich in Flüssigkeiten, die von den Schleimhautmembranen sezerniert werden, welche die Neuronen umgeben, die in der oralen oder Bindehautschleimwand enthalten sind, oder Ähnlichen. Unter diesen neurologischen Mitteln, welche lipophil sind, befinden sich Ganglioside (wie GM-1-Gangliosid) und Phosphatidylserin (PS).

#### IGF-I

**[0045]** Der Ausdruck "IGF-I", wie er hierin verwendet wird, bezieht sich auf Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor I (IGF-I), ein einzelkettiges Peptid mit 70 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von ungefähr 7600 Dalton. Insulin-ähnlicher Wachstumsfaktor I stimuliert die Mitose und Wachstumsprozesse, die mit der Zellentwicklung einhergehen.

**[0046]** In einer Ausführungsform der Erfindung wird die Erhöhung der Menge von IGF-I auf einen therapeutisch wirksamen Spiegel mittels der Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung erreicht, die eine therapeutisch wirksame Dosis umfasst. Das zu verabreichende IGF-I kann von jeder Tierart stammen, einschließlich Nagetieren, Affen, Hunden, Rindern, Schweinen, Pferden, und bevorzugt Menschen, aber ohne Beschränkung darauf. Bevorzugt stammt das IGF-I von einer Säugerart, und insbesondere von einem Säuger derselben Art wie der Säuger, der die Behandlung durchmacht.

**[0047]** Biologisch aktive Varianten von IGF-I sind ebenfalls vom erfindungsgemäßen Verfahren umfasst. Solche Varianten sollten die IGF-I-Aktivitäten, insbesondere die Fähigkeit, an IGF-I-Rezeptorstellen zu binden, beibehalten. Die IGF-I-Aktivität kann unter Verwendung von Standard-IGF-I-Bioassays gemessen werden. Beispielhafte Assays umfassen die bekannten Radiorezeptor-Assays unter Verwendung von Plazentamembranen (siehe z.B. US-Patent 5 324 639; Hall et al. (1974) J. Clin. Endocrinol. and Metab. 39:973-976; und Marshall et al. (1974) J. Clin. Endocrinol. and Metab. 39:283-292), einen Bioassay, der die Fähigkeit des Moleküls misst, den Einbau von Tritium-markiertem Thymidin zu fördern, und zwar auf Dosisabhängige Weise, in die DNA von BALB/c-3T3-Fibroblasten (siehe z.B. Tamura et al. (1989) J. Biol. Chem. 262:5616-5621), und ähnliche. Bevorzugt besitzt die Variante zumindest dieselbe Aktivität wie das native Molekül.

**[0048]** Geeignete biologisch aktive Varianten können IGF-I-Fragmente, -Analoge und -Derivate sein. Mit "IGF-I-Fragment" ist ein Protein gemeint, das nur aus einem Teil der intakten IGF-I-Sequenz und -Struktur besteht und eine C-terminale Deletion oder N-terminale Deletion von IGF-I sein kann. Mit "Analogon" ist ein Analogon von entweder IGF-I oder von einem IGF-I-Fragment gemeint, welches eine native IGF-I-Sequenz umfasst, und eine Struktur mit einer oder mehreren Aminosäure-Substitutionen, -Insertionen oder -Deletionen.



Peptide mit einem oder mehreren Peptoiden ("peptide mimics") sind ebenfalls vom Ausdruck Analogon umfasst (siehe z.B. internationale Veröffentlichung WO 91/04282). Mit "Derivat" ist jede geeignete Modifikation von IGF-I, IGF-I-Fragmenten oder ihren jeweiligen Analoga gemeint, wie Glykosylierung, Phosphorylierung und andere Hinzufügungen fremder Gruppierungen, solange die IGF-I-Aktivität erhalten bleibt. Verfahren zur Herstellung von IGF-I-Fragmenten, -Analoga und -Derivaten sind im Stand der Technik verfügbar. Siehe allgemein US-Patente Nr. 4 738 921, 5 158 875 und 5 077 276; internationale Veröffentlichungen WO 85/00831, WO 92/04363, WO 87/01038 und WO 89/05822; und europäische Patente EP 135094, EP 123228 und EP 128733.

**[0049]** IGF-I-Varianten werden im Allgemeinen mindestens 70%, bevorzugt 80%, bevorzugter 85%, und noch bevorzugter 90% bis 95% oder mehr, insbesondere 98% oder mehr, Aminosäuresequenz-Identität mit der Aminosäuresequenz des Bezugs-IGF-I-Moleküls aufweisen. Eine Variante kann z.B. in so wenigen wie 1 bis 10 Aminosäureresten, wie 6-10, so wenigen wie 5, so wenigen wie 4, 3, 2 oder sogar nur 1 Aminosäure unterschiedlich sein.

**[0050]** Mit "Sequenzidentität" ist gemeint, dass dieselben Aminosäurereste sich innerhalb der Variantensequenz und einer Bezugssequenz befinden, wenn ein spezifisches zusammenhängendes Segment der Aminosäuresequenz der Variante [an die Bezugssequenz] angelagert wird und mit der Aminosäuresequenz der Bezugssequenz verglichen wird. Verfahren zur Aneinanderanlagerung von Sequenzen und zur Bestimmung der Identität zwischen Sequenzen sind im Stand der Technik wohlbekannt. Siehe z.B. Ausubel et al., Hrsg. (1995) *Current Protocols in Molecular Biology*, Kapitel 19 (Greene Publishing und Wiley-Interscience, New York); und das ALIGN-Programm (Dayhoff (1978) in *Atlas of Protein Sequence and Structure 5: Suppl. 3* (National Biomedical Research Foundation, Washington, D.C.). Eine Vielzahl von Algorithmen zum Anlagern von Sequenzen und zur Bestimmung der Sequenzidentität ist verfügbar und umfasst z.B. den Algorithmus zur Homologie-Anlagerung von Needleman et al. (1970) *J. Mol. Biol.* 48:443; den lokalen Homologie-Algorithmus von Smith et al. (1981) *Adv. Appl. Math.* 2:482; das Verfahren zur Suche von Ähnlichkeiten ("similarity method") von Pearson et al. (1988) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 85:2444; den Smith-Waterman-Algorithmus (*Meth. Mol. Biol.* 70:173-187 (1997)); und BLASTP-, BLASTN- und BLASTX-Algorithmen (siehe Altschul et al. (1990) *J. Mol. Biol.* 215:403-410). Computer-gestützte Programme, die diese Algorithmen verwenden, sind ebenfalls verfügbar und umfassen, ohne Beschränkung: GAP, BESTFIT, BLAST, FASTA und TFASTA, erhältlich in dem Paket der Genetics Computing Group (GCG), Version 8, Madison, Wisconsin, USA; und CLUSTAL im PC/Gene-Programm von Intelligenetics, Mountain View, Kalifornien. Bevorzugt wird die Sequenzidentität mit Standardparametern, die vom Programm bestimmt werden, bestimmt.

**[0051]** Im Hinblick auf eine optimale Anlagerung von zwei Aminosäuresequenzen kann das zusammenhängende Segment der Varianten-Aminosäuresequenz zusätzliche Aminosäurereste oder deletierte Aminosäurereste im Hinblick auf die Bezugs-Aminosäuresequenz aufweisen. Das zusammenhängende Segment, das zum Vergleich mit der Bezugs-Aminosäuresequenz verwendet wird, umfasst mindestens 20 zusammenhängende Aminosäurereste und kann 30, 40, 50 oder mehr Aminosäurereste umfassen. Korrekturen für eine erhöhte Sequenzidentität, die mit dem Einschluss von Lücken ("gaps") in der Aminosäuresequenz der Variante verbunden ist, können vorgenommen werden, indem Lücken-Strafpunkte ("gap penalties") vergeben werden.

**[0052]** Im Hinblick auf die Prozentzahl der Aminosäuresequenz-Identität können manche Aminosäurerest-Positionen als Ergebnis einer konservativen Aminosäure-Substitution unterschiedlich sein, welche die Eigenschaften der Proteinfunktion nicht beeinflussen. Bei diesen Beispielen kann die Sequenzidentitäts-Prozentzahl nach oben korrigiert werden, um die Ähnlichkeit der konservativ substituierten Aminosäuren mit einzu-beziehen. Solche Anpassungen sind im Stand der Technik wohlbekannt. Siehe z.B. Meyers & Miller (1988) *Computer Applic. Biol. Sci.* 4:11-17.

**[0053]** Der Stand der Technik stellt beträchtliche Hilfen in Bezug auf die Herstellung und Verwendung solcher IGF-I-Varianten bereit, wie unten weiter erläutert. Ein Fragment von IGF-I wird im Allgemeinen mindestens ungefähr 10 zusammenhängende Aminosäurereste des Volllängen-Moleküls umfassen, bevorzugt ungefähr 15-25 zusammenhängende Aminosäurereste des Volllängen-Moleküls, und insbesondere ungefähr 20-50 oder mehr zusammenhängende Aminosäurereste des Volllängen-IGF-I.

**[0054]** Mehrere IGF-I-Analoga und Fragmente sind im Stand der Technik bekannt und umfassen jene, die z.B. in *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 83 (1986) 4904-4907; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 149 (1987) 398-404; *J. Biol. Chem.* 263 (1988) 6233-6239; *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 165 (1989) 766-771; Forsbert et al. (1990) *Biochem. J.* 271:357-363; US-Patente Nr. 4 876 242 und 5 077 276; und internationale Veröffentlichungen Nr. WO 87/01038 und WO 89/05822 beschrieben sind. Beispielhafte Analoga umfassen eines mit einer

Deletion von Glu-3 des reifen Moleküls, Analoga mit bis zu 5 Aminosäuren Verkürzung am N-Terminus und ein Analogon mit einer Verkürzung der ersten 3 N-terminalen Aminosäuren (bezeichnet als des(1-3)-IGF-I, des-IGF-I, tIGF-I oder Hirn-IGF), und ein Analogon, das die ersten 17 Aminosäuren der B-Kette von humanem Insulin anstelle der ersten 16 Aminosäuren von humanem IGF-I umfasst.

**[0055]** Das IGF-I kann in der vorliegenden Erfindung in seiner im Wesentlichen gereinigten, nativen, rekombinant produzierten oder chemisch synthetisierten Form verwendet werden. IGF-I kann aus Serum oder Plasma isoliert und gereinigt werden (siehe Phillips (1980) New Eng. J. Med. 302:371-380, und europäisches Patent Nr. EP 123 228). IGF-I kann auch mittels des Festphasen-Verfahrens chemisch synthetisiert werden (siehe Li et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2216-2220).

**[0056]** Gentechnische Herstellung mittels rekombinanter DNA-Techniken kann der effizienteste Weg zur Herstellung von IGF-I sein. Die humane DNA-Sequenz, die für IGF-I codiert, ist bekannt und kann zur Expression in Wirtszellen eingeführt werden. IGF-I kann mittels rekombinanter DNA-Techniken in E. coli, Hefe, Insekten- und Säugerzellen produziert werden. Sezerniertes IGF-I kann hergestellt werden, indem der DNA-Sequenz, die für IGF-I codiert, eine Signalsequenz beigefügt wird. Zusätzlich kann die DNA-Sequenz, die für IGF-I codiert, manipuliert werden, um IGF-I-Fragmente, -Analoga oder -Derivate herzustellen. Solche rekombinanten DNA-Techniken sind im Stand der Technik allgemein verfügbar. Siehe z.B. internationale Veröffentlichung WO 96/07424, in der rekombinantes humanes IGF-I-Protein in Hefe produziert wird. IGF-I kann auch rekombinant in dem Hefestamm *Pichia pastoris* hergestellt werden und gereinigt werden, im Wesentlichen wie beschrieben in den US-Patenten Nr. 5 324 639, 5 324 660 und 5 650 496 und der internationalen Veröffentlichung WO 96/40776.

#### FGF

**[0057]** Mit dem Ausdruck "FGF", wie er hierin verwendet wird, ist ein Fibroblasten-Wachstumsfaktor-Protein gemeint, wie FGF-1, FGF-2, FGF-4, FGF-6, FGF-8, FGF-9 oder FGF-98, oder ein biologisch aktives Fragment oder Mucin davon. Typischerweise ist das FGF ein humanes (h) FGF-1, ein Rinder (b)-FGF-1, hFGF-2, bFGF-2, hFGF-4 oder hFGF-5. In einer alternativen Ausführungsform ist das aktive Mittel in der Einheitsdosis hFGF-6, hFGF-8, hFGF-9 oder hFGF-98. In einer Ausführungsform der Erfindung wird das Erhöhen der Menge an FGF auf einen therapeutisch wirksamen Spiegel über die Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung erreicht, die eine therapeutisch wirksame Dosis umfasst. Das zu verabreichende FGF kann von jeder Tierart sein, einschließlich, aber nicht beschränkt auf, Nagetiere, Affen, Hunde, Rinder, Schweine, Pferde und bevorzugt Menschen. Bevorzugt stammt das FGF von einer Säugerart, und bevorzugter ist der Säuger von derselben Art wie der Säuger, der der Behandlung unterzogen wird.

**[0058]** Die Aminosäuresequenzen und Verfahren zur Herstellung von vielen der FGFs, die in der erfindungsgemäßen Einheitsdosis, pharmazeutischen Zusammensetzung bzw. dem erfindungsgemäßen Verfahren verwendet werden, sind im Stand der Technik wohlbekannt. Referenzen, die im Einzelnen die Aminosäuresequenz und rekombinante Expression von FGF 1-9 und FGF-98 offenbaren, werden im Folgenden nacheinander genannt.

**[0059]** FGF-1: Die Aminosäuresequenz von hFGF-1 und ein Verfahren zu seiner rekombinanten Expression sind in dem US-Patent 5 604 293 (Fiddes) offenbart, welches den Titel trägt "Recombinant Human Basic Fibroblast Growth Factor" und am 18. Februar 1997 erteilt wurde. Siehe **Fig. 2d** des '293-Patentes. Die Aminosäuresequenz von bFGF-1 ist in dem US-Patent 5 604 293 (Fiddes) in **Fig. 1b** offenbart, sowie ein Verfahren zu seiner Expression. Die reifen Formen von sowohl hFGF-1 als auch bFGF-1 weisen 140 Aminosäurereste auf. bFGF-1 unterscheidet sich von hFGF-1 an 19 Aminosäure-Positionen: 5 Pro zu Leu, 21 His zu Tyr, 31 Tyr zu Val, 35 Arg zu Lys, 40 Gin zu Gly, 45 Gin zu Phe, 47 Ser zu Cys, 51 Tyr zu Ile, 54 Tyr zu Val, 64 Tyr zu Phe, 80 Asn zu Asp, 106 Asn zu His, 109 Tyr zu Val, 116 Ser zu Arg, 117 Cys zu Ser, 119 Arg zu Leu, 120 Gly zu Glu, 125 Tyr zu Phe und 137 Tyr zu Val. Bei den meisten Fällen sind die Unterschiede konservativ. Außerdem tauschen die Unterschiede an den Aminosäure-Positionen 116 und 119 lediglich die Position des Arg aus.

**[0060]** FGF-2: Die Aminosäuresequenz des humanen FGF-2 (hFGF-2) und Verfahren zu seiner rekombinanten Expression sind in dem US-Patent 5 439 818 (Fiddes) offenbart, mit dem Titel "DNA Encoding Human Recombinant Basic Fibroblast Growth Factor", welches am 8. August 1995 erteilt wurde (siehe darin **Fig. 4**). Die Aminosäuresequenz des Rinder-FGF-2 (bFGF-2) und verschiedene Verfahren zu seiner rekombinanten Expression sind in dem US-Patent 5 155 214 offenbart, das den Titel trägt "Basic Fibroblast Growth Factor", welches am 13. Oktober 1992 erteilt wurde. Wenn die Formen von hFGF-2 und bFGF-2 mit 146 Resten verglichen werden, sind ihre Aminosäuresequenzen nahezu identisch, mit nur zwei unterschiedlichen Resten. Wenn man

im Einzelnen von hFGF-2 zu bFGF-2 geht, treten die einzigen Unterschiede an den Aminosäure-Positionen 112 (Thr zu Ser) und 128 (Ser zu Pro) auf.

**[0061]** FGF-3: FGF-3 wurde zuerst als ein Expressionsprodukt eines Maus-int-2-Mammatumors identifiziert, und seine Aminosäuresequenz ist in Dickson et al., "Potential Oncogene Product Related to Growth Factors", Nature 326:833 (30. April 1987), offenbart. FGF-3, welches 243 Reste aufweist, wenn das N-terminale Met ausgenommen wird, ist wesentlich länger als sowohl FGF-2 (human und vom Rind) als auch FGF-2 (human und vom Rind). Ein Vergleich der Aminosäurereste für mFGF-3 mit bFGF-1 und bFGF-2 ist in überlappender Darstellung in Dickson et al. (1987) gezeigt. Wenn die Aminosäuresequenz von mFGF-3 mit bFGF-1 und bFGF-2 verglichen wird, weist FGF-3 5 Stellen auf, die im Vergleich mit FGF-1 und FGF-2 Insertionen von Resten enthalten. Die signifikanteste Insertion ist eine 12- und eine 14-Aminosäurerest-Insertion im Vergleich zu FGF-2 bzw. FGF-1, die an Aminosäure-Position 135 von FGF-3 beginnt. Dickson legt dar, dass aufgrund der Insertionen mFGF-3 53 Aminosäurerest-Identitäten im Vergleich mit FGF-1 und 69 Aminosäurerest-Identitäten im Vergleich mit FGF-2 aufweist. Zusätzlich enthält FGF-3 eine hydrophobe N-terminale Erweiterung von 10 Resten im Vergleich mit dem N-Terminus der Signalsequenz von sowohl FGF-1 als auch FGF-2. Im Vergleich mit dem C-Terminus von bFGF-1 und bFGF-2 enthält mFGF-3 eine Erweiterung von ungefähr 60 Aminosäureresten. Es ist unwahrscheinlich, dass die C-terminale Erweiterung von mFGF-3 für die Aktivität notwendig ist. Es ist wahrscheinlicher, dass diese ein Moderator der Aktivität ist, indem er dem FGF-Rezeptor Spezifität verleiht.

**[0062]** FGF-4: Die Aminosäuresequenz für das hst-Protein, das nun als hFGF-4 bekannt ist, wurde zuerst von Yoshida et al. offenbart in "Genomic Sequence of hst, a Transforming Gene Enclosing a Protein Homologous to Fibroblast Growth Factors and the int-2-Enclosed Protein", PHAS USA, 84:7305-7309 (Okt. 1987), siehe **Fig. 3**. Einschließlich seiner Leitsequenz weist hFGF-4 206 Aminosäurereste auf. Wenn die Aminosäuresequenzen von hFGF-4, hFGF-1, hFGF-2 und mFGF-3 verglichen werden, weisen die Reste 72 bis 204 von hFGF-4 43% Homologie zu hFGF-2 auf; die Reste 79-204 weisen 38% Homologie zu hFGF-1 auf; und Reste 72-174 weisen 40% Homologie zu mFGF-3 auf. Ein Vergleich dieser vier Sequenzen in überlappender Form ist in Yoshida (1987) in **Fig. 3** gezeigt. Außerdem sind die Cys an den Aminosäure-Positionen 88 und 155 von hFGF-4 bei hFGF-1, hFGF-2, mFGF-3 und hFGF-4 hochkonserviert und befinden sich in einer homologen Region.

**[0063]** Die zwei vermuteten Zellbindungsstellen von hFGF-2 befinden sich an dessen Aminosäure-Positionen 36-39 und 77-81. Siehe Yoshida (1987) in **Fig. 3**. Die zwei vermuteten Heparin-Bindestellen von hFGF-2 befinden sich an seinen Aminosäure-Positionen 18-22 und 107-111. Siehe Yoshida (1987) in **Fig. 3**. Bei der gegebenen wesentlichen Ähnlichkeit der Aminosäuresequenzen von humanem und Rinder-FGF-2, erwarten wir, dass die Zellbindungsstellen für bFGF-2 sich ebenfalls an dessen Aminosäure-Positionen 36-39 und 77-81 befinden, und sich die Heparin-Bindestellen an dessen Aminosäure-Positionen 18-22 und 107-111 befinden. Bei hFGF-1 befinden sich die vermuteten Zellbindungsstellen bei den Aminosäureresten 27-30 und 69-72, und die vermuteten Heparin-Bindestellen befinden sich an Resten 9-13 und 98-102. Insofern reifes bFGF-1 identische Aminosäuren an den Aminosäure-Positionen 9-13, 27-30, 69-72 und 98-102 aufweist, wie reifes hFGF-2, wird vermutet, dass bFGF-1 dieselben Zell- und Heparin-Bindestellen wie hFGF-1 aufweist.

**[0064]** FGF-5: Die cDNA- und abgeleitete Aminosäuresequenz für hFGF-5 sind bei Zhan et al., "The Human FGF-5 Oncogene Encodes a Novel Protein Related to Fibroblast Growth Factors", Molec. And Cell. Biol., 8(8):3487-3495 (Aug. 1988), in **Fig. 1** offenbart. Zhan offenbart auch ein Verfahren zur Klonierung von hFGF-5. Ein weiteres hFGF-5 weist eine Aminosäuresequenz auf, welche sich von Zhan's Sequenz an der Aminosäure-Position 236 (mit Lys anstelle des Asn bei Zhan) und an Aminosäure-Position 243 (mit Pro anstelle von Ser bei Zhan) unterscheidet. Beide Aminosäuresequenzen für hFGF-5 haben 266 Aminosäurereste, die eine Leitsequenz von 67 Resten stromaufwärts des ersten Restes des reifen FGF-2 und eine Schwanzsequenz, die sich über 47 Reste jenseits des C-Terminus von hFGF-2 erstreckt, umfassen. Ein Vergleich der Aminosäuresequenzen von hFGF-1, hFGF-2, mFGF-3, hFGF-4 und FGF-5 ist in **Fig. 2** von Zhan (1988) dargestellt. In **Fig. 2** von Zhan sind hFGF-1, hFGF-2, mFGF-3 und hFGF-4 als aFGF (d.h., saures ("acidic") FGF), bFGF (d.h., basisches FGF), int-2 bzw. hstKS3 bezeichnet, d.h., mit ihren ursprünglichen Namen. In dem Vergleich, auf den oben Bezug genommen wird, zeigen zwei Blöcke von FGF-S-Aminosäureresten (90-180 und 187-207) wesentliche Homologie zu FGF 1-4, d.h., 50,4% mit FGF-4, 47,5% mit FGF-3, 43,4% mit FGF-2 und 40,2% mit hFGF-1. Siehe Zhan (1988) in **Fig. 2**. Die US-Patente 5 155 217 (Goldfarb) und 5 238 916 (Goldfarb), welche der Zhan-Veröffentlichung entsprechen, beziehen sich auf das FGF-5 von Zhan als FGF-3. Der Stand der Technik (wie von Coulier, unten, nachgewiesen) ist jedoch zu der Erkenntnis gekommen, dass das hFGF von Zhan (und von den Goldfarb-Patenten) als FGF-5 und nicht als FGF-3 anzuerkennen ist. Die zwei Goldfarb-Patente enthalten dieselbe Aminosäuresequenz für hFGF-5, wie oben durch Zhan berichtet.

**[0065]** FGF-6: Die cDNA- und die abgeleitete Aminosäuresequenz für hFGF-6 sind in Coulier et al., "Putative Structure of the FGF-6 Gene Product and Role of the Signal Peptide", *Oncogene* 6:1437-1444 (1991), in **Fig. 2** offenbart. Coulier offenbart auch ein Verfahren zur Klonierung von FGF-6. hFGF-6 ist eines der größten FGFs mit 208 Aminosäureresten. Wenn die Aminosäuresequenz von humanem FGF-1, FGF-2, FGF-3, FGF-4, FGF-5, FGF-6 und FGF-7 verglichen werden, gibt es starke Ähnlichkeiten in den C-terminal gelegenen zwei Dritteln der Moleküle (entsprechend z.B. Resten 78-208 von hFGF-6. Insbesondere waren 23 Reste von FGF-6, einschließlich der zwei Cysteine an den Aminosäure-Positionen 90-157 von hFGF-6 identisch bei den sieben Mitgliedern der Familie. Die Anzahl erhöht sich auf 33 Reste, wenn konservierte Aminosäurereste mit in Betracht gezogen werden. Die Gesamtähnlichkeiten zwischen diesen sieben humanen FGFs reichen von 32% bis 70% identischen Resten und 48% bis 79% konservierten Resten für die C-terminalen zwei Drittel der Moleküle. Der Sequenzvergleich von hFGF-1 bis hFGF-5 und hFGF-7 mit hFGF-6 ist in der FGF-Tabelle hierin gezeigt.

#### FGF-TABELLE

##### Aminosäuresequenz-Vergleich von hFGF-6 mit anderen hFGFs

	Identische Reste*	Konservierte Reste**	Identische Reste* (%)	Konservierte Reste** (%)
hFGF-4	91	103	70	79
hFGF-5	64	82	49	63
hFGF-3	55	78	42	60
hFGF-2	54	69	42	53
hFGF-7	47	68	36	52
hFGF-1	42	62	32	48

\* Anzahl und Prozentzahl identischer oder konservierter Reste wurden für die C-terminalen zwei Drittel des hFGF-6-Moleküls (Reste 78-208) errechnet.

\*\* Konservierte Reste sind entsprechend der strukturgenetischen Matrix von Feng et al., *J. Mol. Evol.*, 21:112-125 (1985) definiert.

**[0066]** Unter Bezugnahme auf die FGF-Tabelle, besitzt FGF-6 die höchste Übereinstimmung (91 identische Reste/103 konservierte Reste) mit FGF-4. Dies bedeutet 70% identische und 79% konservierte Reste. hFGF-6 unterscheidet sich am stärksten von hFGF-3, hFGF-2, hFGF-7 und hFGF-1 mit 42, 42, 36 bzw. 32 identischen Resten.

**[0067]** Ein übereinandergelagerter Vergleich der Aminosäuresequenzen von FGFs 1-7 ist in **Fig. 3** von Coulier (1991) gezeigt, worauf Bezug genommen wurde. **Fig. 3** von Coulier zeigt, dass es, wenn die C-terminal gelegenen zwei Drittel der FGF-Moleküle aneinander angelagert werden, 23 Aminosäurerest-Positionen gibt, an denen die Reste von allen sieben FGF-Mitgliedern identisch sind. Es gibt zudem zehn Aminosäurerest-Positionen, an denen die Reste von allen sieben FGF-Mitgliedern konserviert sind. Coulier (1991) in **Fig. 3**. Zusammengefasst bilden diese identischen und konservierten Reste ungefähr 6 Stellen von drei bis fünf Resten in den terminalen zwei Dritteln von jedem der FGFs 1-7, in denen drei bis fünf Reste in allen sieben Arten von humanem FGF (d.h., hFGF 1-7) Gruppen bilden.

**[0068]** FGF-7: Die Aminosäuresequenz von hFGF-7 ist im Stand der Technik wohl bekannt und in Miyamoto et al., "Molecular Cloning of a Novel Cytokine cDNA Encoding the Ninth Member of the Fibroblast Growth Factor Family, Which has a Unique Secretion Property", *Mol. And Cell. Biol.* 13(7):4251-4259 (1993), in **Fig. 2** offenbart. In Miyamoto wurde auf hFGF-7 unter seinem älteren Namen "KGF" Bezug genommen. FGF-7 hat 191 Aminosäuresequenzen von hFGF-106, und hFGF-9 zeigt, dass die Carboxy-terminalen zwei Drittel des FGF-7 vergleichbare Homologie mit den distalen zwei Dritteln der anderen Mitglieder der Gruppe aufweist. Siehe Miyamoto (1993) auf Seite 4254 (**Fig. 2**).

**[0069]** FGF-8: Die cDNA- und die abgeleitete Aminosäuresequenz von mFGRF-8 ist wohl bekannt im Stand der Technik und bei Tanaka et al., "Cloning and Characterization of an Androgen-Induced Growth Factor Es-

sential for the Growth of Mouse Mammary Carcinoma Cells", PNAS USA, 89:8928-8932 (1992), in **Fig. 2** offenbart. Tanaka offenbart auch ein Verfahren zur Herstellung von rekombinantem FGF-8. Das mFGF-8 von Tanaka weist 215 Aminosäurereste auf. MacArthur et al., "FGF-8 isoforms activate receptor splice forms that are expressed in mesenchymal regions of mouse development", Development, 121:3603-3613 (1995), offenbart, dass FGF-8 8 unterschiedliche Isoformen aufweist, die sich in Bezug auf den reifen N-Terminus unterscheiden, aber über die C-terminale Region hinweg identisch sind. Die 8 Isoformen treten auf, weil FGF-8 6 Exons aufweist, von denen die ersten vier (welche dem ersten Exon der meisten anderen FGF-Gene entsprechen) zu alternativem Splicing führen.

**[0070]** FGF-9: Die cDNA- und die abgeleitete Aminosäuresequenz von humanem und murinem FGF-9 sind im Stand der Technik bekannt, und Verfahren zu ihrer rekombinanten Expression sind in Santos-Ocampo et al., "Expression and Biological Activity of Mouse Fibroblast Growth Factor", J. Biol. Chem., 271(3):1726-1731 (1996), offenbart. Sowohl die humanen als auch die Maus-FGF-9-Moleküle besitzen 208 Aminosäurereste und -sequenzen, die sich nur in zwei Resten unterscheiden. Im Einzelnen weist hFGF-9 Ser und Asn an Resten 9 bzw. 34 auf. FGF-9 weist eine vollständige Konservierung der konservierten Aminosäuren auf, die die FGF-Familie definieren. Santos-Ocampo (1996), S. 1726. Die halb-maximale Aktivierung von FGF-9 wird bei 185 ng/ml Heparin beobachtet, während die halb-maximale Aktivierung von FGF-1 bei 670 ng/ml Heparin beobachtet wird. Santos-Ocampo (1996), S. 1730. Verglichen mit FGF-1 benötigen sowohl FGF-1, sowohl FGF-2 als auch FGF-9 niedrigere Heparin-Konzentrationen für die optimale Aktivität.

**[0071]** FGF-98: Die cDNA- und die Aminosäuresequenz von hFGF-98 und ein Verfahren zu seiner rekombinanten Expression sind in der vorläufigen Patentanmeldung mit der Serien-Nr. 60/083 553 offenbart, auf die hierin vollständig expressis verbis Bezug genommen wird. hFGF-98, welches auch als hFGF-18 bekannt ist, weist 207 Aminosäurereste auf. Somit sind hFGF-6 (207 Reste), hFGF-9 (209 Reste) und hFGF-98 (207 Reste) ähnlich groß.

**[0072]** bFGF-2 und andere FGFs können wie in dem US-Patent 5 155 214 ("dem '214-Patent") beschrieben hergestellt werden. Das rekombinante bFGF-2 und andere FGFs können bis zu pharmazeutischer Qualität (98% oder eine größere Reinheit) gereinigt werden, indem die Techniken verwendet werden, die im Detail in dem US-Patent 4 956 455 (dem '455-Patent), das den Titel trägt "Bovine Fibroblast Growth Factor", und welches am 11.09.1990 erteilt wurde, beschrieben sind.

**[0073]** Biologisch aktive Varianten von FGF sind auch vom Verfahren der vorliegenden Erfindung umfasst. Solche Varianten sollten FGF-Aktivitäten beibehalten, insbesondere die Fähigkeit, an FGF-Rezeptorstellen zu binden. Die FGF-Aktivität kann unter Verwendung eines Standard-FGF-Bioassays gemessen werden, welcher einem Fachmann bekannt ist. Beispielhafte Assays umfassen bekannte Radiorezeptor-Assays unter Verwendung von Membranen, einen Bioassay, der die Fähigkeit des Moleküls misst, den Einbau von Tritium-markiertem Thymidin in Dosis-abhängiger Weise in die DNA von Zellen einzubauen, und ähnliche. Bevorzugt hat die Variante mindestens dieselbe Aktivität wie das native Molekül.

**[0074]** Zusätzlich zu den oben beschriebenen FGFs umfasst das neurologische Mittel auch ein aktives Fragment von einem der oben beschriebenen FGFs. In seiner einfachsten Form kann das aktive Fragment durch Entfernen des N-terminalen Methionins hergestellt werden, und zwar unter Verwendung von wohlbekannten Techniken zum Entfernen des N-terminalen Met, wie die Behandlung mit einer Methionin-Aminopeptidase. Eine zweite wünschenswerte Verkürzung umfasst ein FGF ohne seine Leitsequenz. Der Fachmann erkennt die Leitsequenz als eine Reihe hydrophober Reste am N-Terminus eines Proteins, die seinen Durchgang durch eine Zellmembran erleichtern, aber die nicht für die Aktivität notwendig sind und die daher beim reifen Protein nicht zu finden sind.

**[0075]** Bevorzugte Verkürzungen der FGFs werden relativ zum reifen hFGF-2 (oder dem analogen bFGF-2) mit 146 Resten bestimmt. Als allgemeine Regel wird die Aminosäuresequenz eines FGF mit FGF-2 angelagert, um maximale Homologie zu erreichen. Teile des FGF, die sich bis jenseits des entsprechenden N-Terminus des daran angelagerten FGF-2 erstrecken, sind im Allgemeinen für eine Deletion ohne ungünstige Auswirkungen geeignet. Gleichmaßen können Teile des FGF, die sich bis jenseits des C-Terminus des daran angelagerten FGF-2 erstrecken, ebenfalls ohne ungünstige Auswirkungen deletiert werden.

**[0076]** Fragmente von FGF, die kleiner sind als jene oben Beschriebenen, können ebenfalls in der vorliegenden Erfindung verwendet werden, solange sie die Zellbindungsteile von FGF und mindestens ein Heparin-Bindesegment behalten. Im Falle von reifem FGF-2 mit Resten 1-146 liegen die zwei vermuteten Zellbindestellen an den Aminosäure-Positionen 36-39 und 77-81. Siehe Yoshida et al., "Genomic Sequence of hst, a Transfor-

ming Gene Encoding a Protein Homologous to Fibroblast Growth Factors and the int-2-Encoded Protein", PNAS USA, 84:7305-7309 (Okt. 1987), **Fig. 3**. Die zwei vermuteten Heparin-Bindestellen von hFGF-2 liegen an den Aminosäure-Positionen 18-22 und 107-11. Siehe Yoshida (1987), **Fig. 3**). Dementsprechend umfassen aktive Fragmente eines FGF typischerweise jene terminal verkürzten Fragmente eines FGF, die die Homologie maximieren, wenn sie mit reifem FGF-2 (mit Resten 1-146) angelagert werden, sie weisen mindestens die Reste auf, die mit den Aminosäureresten an Positionen 30-110 von FGF-2 entsprechen; und typischerweise mindestens die Reste, die den Aminosäureresten 18-146 von FGF-2 entsprechen.

**[0077]** Geeignete biologisch aktive Varianten können FGF-Analoga oder -Derivate sein. Mit "Analogon" ist ein Analogon entweder von FGF oder von einem FGF-Fragment gemeint, welches eine native FGF-Sequenz und -Struktur mit einer oder mehreren Aminosäure-Substitutionen, -Insertionen oder -Deletionen umfasst. Analoga mit einer oder mehreren Peptidsequenzen (Peptid-Mimik-Sequenzen) sind ebenfalls umfasst (siehe z.B. internationale Veröffentlichung WO 91/04282). Mit "Derivat" ist jede geeignete Modifikation von FGF, von FGF-Fragmenten oder ihren jeweiligen Analoga gemeint, wie Glykosylierung, Phosphorylierung oder andere Hinzufügungen fremder Gruppierungen, solange die FGF-Aktivität beibehalten wird. Verfahren zur Herstellung von FGF-Fragmenten, -Analoga und -Derivaten sind im Stand der Technik verfügbar.

**[0078]** Zusätzlich zu den oben beschriebenen FGFs kann das erfindungsgemäße Verfahren auch ein aktives Mutein oder eine Variante davon verwenden. Mit dem Ausdruck "aktives Mutein", wie er in Verbindung mit einem FGF verwendet wird, ist eine mutierte Form des natürlich vorkommenden FGF gemeint. FGF-Muteine oder -Varianten weisen im Allgemeinen mindestens 70%, bevorzugt 80%, bevorzugter 85%, noch mehr bevorzugt 90% bis 95% oder mehr, und insbesondere 98% oder mehr, Aminosäuresequenz-Identitäten zu der Aminosäuresequenz des Bezugs-FGF-Moleküls auf. Ein Mutein oder eine Variante kann z.B. in so wenigen wie 1-10 Aminosäureresten, wie 6-10, so wenig wie 5, so wenig wie 4, 3, 2, oder sogar nur einem Aminosäurerest unterschiedlich sein.

**[0079]** Die Sequenzidentität kann bestimmt werden, wie hierin oben beschrieben. Für FGF verwendet ein bevorzugtes Verfahren zur Bestimmung der Sequenzidentität den Smith-Waterman-Homologiesuche-Algorithmus (Meth. Mol. Biol. 70:173-187 (1997)), wie in dem MSPRCH-Programm (Oxford Molecular) implementiert, und zwar unter Verwendung einer affinen Lückensuche ("gap search") mit den folgenden Suchparametern: "gap open penalty" von 12 und "gap extension penalty" von 1. Bevorzugt sind die Mutationen "konservative Aminosäure-Substitutionen" unter Verwendung von L-Aminosäuren, wobei eine Aminosäure durch eine andere biologisch ähnliche Aminosäure ersetzt wird. Wie zuvor festgestellt, sind konservative Aminosäure-Substitutionen jene, die die allgemeine Ladung, Hydrophobizität, Hydrophilität und/oder sterische Ausdehnung der zu substituierenden Aminosäure beibehalten. Beispiele konservativer Substitutionen sind jene unter den folgenden Gruppen: Gly/Ala, Val/Ile/Leu, Lys/Arg, Asn/Gln, Glu/Asp, Ser/Cys/Thr und Phe/Trp/Tyr. Im Falle von FGF-2 umfasst ein Beispiel solch einer konservativen Aminosäure-Substitution die Substitution von einem oder beiden der Cysteine an den Aminosäure-Positionen, welche nicht an Disulfidbrückenbildung beteiligt sind, durch Serin, beispielsweise Reste 87 und 92 im reifen FGF-2 (mit Resten 1-146).

**[0080]** Ein Fachmann, der im Stand der Technik bekannte Techniken anwendet, ist in der Lage, eine oder mehrere Punktmutationen in der DNA, die für irgendeines der FGFs codiert, herbeizuführen, um die Expression eines FGF-Polypeptid-Muteins (oder Fragment-Muteins) mit angiogener Aktivität zur Verwendung im erfindungsgemäßen Verfahren zu erhalten. Um ein biologisch aktives Mutein eines FGF zu erhalten, verwendet man Standardtechniken zur gerichteten Mutagenese, wie im Stand der Technik bekannt und/oder in Gilman et al., Gene, 8:81 (1979), oder Roberts et al., Nature, 328:731 (1987), erläutert, um eine oder mehrere Punktmutationen in die cDNA einzuführen, die für FGF codiert.

## NGF

**[0081]** Der Ausdruck "NGF", wie er hierin verwendet wird, bezieht sich auf Nervenwachstumsfaktor (NGF). NGF wurde ursprünglich als Komplex mit einem Molekulargewicht von 130 kDa und einem Sedimentationskoeffizienten von 7S isoliert. Dieser 7S-Komplex umfasste drei Arten von Untereinheiten, von denen die "β"-Untereinheit alle biologischen Aktivitäten von NGF trägt. Der Ausdruck β-NGF kann verwendet werden, um NGF zu bezeichnen, und der Ausdruck NGF bezieht sich typischerweise auf β-NGF. NGF ist ein Dimer aus zwei identischen Peptidketten mit jeweils 118 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von etwa 25,4 kDa. Nervenwachstumsfaktor stimuliert die Mitose und Wachstumsprozesse, die mit der Zell-, insbesondere Nerven-zell-Entwicklung einhergehen.

**[0082]** In einer Ausführungsform der Erfindung wird die Erhöhung der Menge von NGF auf einen therapeu-

tisch wirksamen Spiegel durch Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung, die eine therapeutisch wirksame Dosis umfasst, erreicht. Der zu verabreichende NGF kann von jeder Tierart stammen, einschließlich, aber nicht beschränkt auf, Nagetiere, Affen, Hunde, Rinder, Schweine, Pferde, und bevorzugt Menschen. Bevorzugt stammt das NGF von einer Säugerart, und noch bevorzugter von einem Säuger derselben Art wie der Säuger, der einer Behandlung unterzogen wird.

**[0083]** Biologisch aktive Varianten von NGF sind ebenfalls vom erfindungsgemäßen Verfahren umfasst. Solche Varianten sollten die NGF-Aktivitäten beibehalten, insbesondere die Fähigkeit, an NGF-Rezeptorstellen zu binden. Die NGF-Aktivität kann unter Verwendung eines Standard-NGF-Bioassays gemessen werden, welche einem Fachmann bekannt sind. Beispielhafte Assays umfassen bekannte Radiorezeptor-Assays unter Verwendung von Membranen, einen Bioassay, der die Fähigkeit des Moleküls misst, den Einbau von Tritium-markiertem Thymidin in Dosisabhängiger Weise in die DNA von Zellen zu erhöhen, und ähnliche. Die biologischen Aktivitäten von NGF umfassen das Erhöhen des Spiegels von Cholinacetyltransferase. Bevorzugt besitzt die Variante dieselbe Aktivität wie das native Molekül.

**[0084]** Geeignete biologisch aktive Varianten können NGF-Fragmente, -Analoga und -Derivate sein. Mit "NGF-Fragment" ist ein Protein gemeint, das nur aus einem Teil der intakten NGF-Sequenz und -Struktur besteht, und es kann dies eine C-terminale Deletion oder eine N-terminale Deletion von NGF sein. Mit "Analogon" ist ein Analogon entweder von NGF oder von einem NGF-Fragment gemeint, welches eine native NGF-Sequenz und -Struktur mit einer oder mehreren Aminosäure-Substitutionen, -Insertionen oder -Deletionen umfasst. Analoga mit einer oder mehreren Peptoidsequenzen ("peptide mimic sequences") sind ebenfalls umfasst (siehe z.B. internationale Veröffentlichung WO 91/04282). Mit Derivat ist jede geeignete Modifikation von NGF, NGF-Fragmenten oder ihren jeweiligen Analoga gemeint, wie Glykosylierung, Phosphorylierung oder eine andere Hinzufügung einer fremden Gruppierung, solange die NGF-Aktivität beibehalten wird. Verfahren zum Herstellen von NGF-Fragmenten, -Analoga und -Derivaten sind im Stand der Technik verfügbar.

**[0085]** NGF-Varianten werden im Allgemeinen mindestens 70%, bevorzugt 80%, bevorzugter 85%, noch bevorzugter 90% bis 95% oder mehr, und insbesondere 98% oder mehr, Aminosäuresequenz-Identitäten mit der Aminosäuresequenz des Bezugs-NGF-Moleküls aufweisen. Eine Variante kann z.B. nur bei so wenigen wie 1-10 Aminosäureresten, wie 6-10, so wenigen wie 5, so wenigen wie 4, 3, 2, oder sogar nur einem Aminosäurerest unterschiedlich sein. Sequenz-Identität und -Anlagerung können bestimmt werden, wie hierin oben beschrieben.

**[0086]** Der Stand der Technik stellt wesentliche Hilfe in Bezug auf die Herstellung und die Verwendung von NGF-Varianten bereit. Ein Fragment von NGF wird im Allgemeinen mindestens ungefähr 10 zusammenhängende Aminosäurereste des Vollängen-Moleküls, bevorzugt ungefähr 15-25 zusammenhängende Aminosäurereste des Vollängen-Moleküls, und insbesondere ungefähr 20-50 oder mehr zusammenhängende Aminosäurereste des Vollängen-NGF umfassen.

**[0087]** Das erfindungsgemäß verwendete NGF kann in seiner im Wesentlichen aufgereinigten, nativen, rekombinant hergestellten oder chemisch synthetisierten Form vorliegen. NGF kann aus Serum, Plasma oder anderen Geweben mit Verfahren, die im Stand der Technik bekannt sind, isoliert und gereinigt werden. NGF kann auch mittels des Festphasen-Verfahrens chemisch synthetisiert werden (siehe Li et al. (1983) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:2216-2220).

**[0088]** Die Gentechnik mittels rekombinanter DNA-Techniken kann der effizienteste Weg zur Herstellung von NGF sein. Die humane DNA-Sequenz, die für NGF codiert, ist bekannt und kann zur Expression in Wirtszellen eingeführt werden. NGF kann mittels rekombinanter DNA-Techniken in E. coli-, Hefe-, Insekten- und Säugerzellen hergestellt werden. Sezerniertes NGF kann hergestellt werden, indem der DNA-Sequenz, die für NGF codiert, eine Signalsequenz hinzugefügt wird. Zusätzlich kann die DNA-Sequenz, die für NGF codiert, manipuliert werden, um NGF-Fragmente, -Analoga oder -Derivate zu erzeugen. Solche rekombinanten DNA-Techniken sind allgemein im Stand der Technik verfügbar. Siehe z.B. internationale Veröffentlichung WO 96/07424.

#### Pharmazeutische Zusammensetzung

**[0089]** Eine Erhöhung der Menge des Mittels im ZNS, Gehirn und/oder im Rückenmark auf einen therapeutisch wirksamen Spiegel kann über eine Verabreichung einer pharmazeutischen Zusammensetzung erreicht werden, welche eine therapeutisch wirksame Dosis dieses Mittels umfasst. Mit "therapeutisch wirksamer Dosis" soll eine Dosis eines Mittels bezeichnet werden, welche das gewünschte Ziel der Erhöhung der Menge dieses Mittels in einem relevanten Teil des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks auf einen therapeu-

tisch wirksamen Spiegel, der eine gewünschte biologische Aktivität des Mittels ermöglicht, erreicht. Erwünschte biologische Aktivitäten umfassen einen Anstieg der Proteinphosphorylierung, insbesondere des IGF-I-Rezeptors, in Reaktion auf IGF-I; und einen Anstieg der Acetylcholin-Acetyl-Transferase in Reaktion auf NGF.

**[0090]** Die Erfindung richtet sich insbesondere auf eine Zusammensetzung, die für die Abgabe eines Mittels an bzw. den Transport eines Mittels zum ZNS, Gehirn und/oder Rückenmark nach Verabreichung in die Nasenhöhle verwendet werden kann. Die Zusammensetzung kann z.B. jeden pharmazeutisch annehmbaren Zusatz, Träger oder jedes pharmazeutisch annehmbare Adjuvans umfassen, welche zur Verabreichung eines Mittels durch die Schleimhäute oder das Epithel der Nasenhöhle geeignet sind. Bevorzugt kann die pharmazeutische Zusammensetzung in der Diagnose, der Prävention oder der Behandlung einer Erkrankung, Funktionsstörung oder Verletzung des ZNS, des Gehirns und/oder der Wirbelsäule verwendet werden. Bevorzugt umfasst die Zusammensetzung ein Mittel in Kombination mit einem pharmazeutischen Träger, Zusatz und/oder Adjuvans, welche den Transfer des Mittels innerhalb der Schleimhäute oder des Epithels oder durch die Schleimhäute oder das Epithel der Nasenhöhle hindurch oder entlang eines oder durch ein neurales System fördern. Alternativ dazu kann das Mittel mit Substanzen kombiniert werden, die beim Transport des Mittels zu den Orten einer Nervenzellschädigung helfen. Die Zusammensetzung kann ein oder mehrere Mittel umfassen.

**[0091]** Die Zusammensetzung enthält typischerweise einen pharmazeutisch annehmbaren Träger, der mit dem Mittel und anderen Komponenten in der pharmazeutischen Zusammensetzung gemischt ist. Mit "pharmazeutisch annehmbarer Träger" soll ein Träger bezeichnet werden, der für gewöhnlich im Stand der Technik verwendet wird, um die Lagerung, die Verabreichung und/oder die Heilwirkung des Mittels zu erleichtern. Ein Träger kann auch irgendwelche unerwünschten Nebenwirkungen des Mittels vermindern. Ein geeigneter Träger sollte stabil, d.h., unfähig zur Reaktion mit anderen Inhaltsstoffen der Formulierung, sein. Er sollte keine signifikanten lokalen oder systemischen ungünstigen Wirkungen in Empfängern der Dosierungen und bei Konzentrationen, die für die Behandlung verwendet werden, hervorrufen. Solche Träger sind allgemein im Stand der Technik bekannt.

**[0092]** Geeignete Träger für diese Erfindung umfassen jene, die für gewöhnlich für große, stabile Makromoleküle verwendet werden, wie Albumin, Gelatine, Collagen, Polysaccharid, Monosaccharide, Polyvinylpyrrolidon, Polymilchsäure, Polyglykolsäure, polymere Aminosäuren, fixierte Öle, Ethyloleate, Liposomen, Glucose, Saccharose, Lactose, Mannose, Dextrose, Dextran, Cellulose, Mannit, Sorbit, Polyethylenglykol (PEG) und ähnliche.

**[0093]** Wasser, Kochsalzlösung, wässrige Dextrose und Glykole sind bevorzugte flüssige Träger, insbesondere (in isotonischer Form) für Lösungen. Der Träger kann ausgewählt werden aus verschiedenen Ölen, einschließlich jener mit einer Herkunft aus Erdöl, Tieren, vegetabilen oder synthetischer Herkunft, z.B. Erdnussöl, Sojaöl, Mineralöl, Sesamöl, und ähnliche. Geeignete pharmazeutische Exzipientien umfassen Stärke, Cellulose, Talk, Glucose, Lactose, Saccharose, Gelatine, Malz, Reis, Mehl, Chalcon, Silicagel, Magnesiumstearat, Natriumstearat, Glycerinmonostearat, Natriumchlorid, Trockenmagermilch, Glycerin, Propylenglykol, Wasser, Ethanol und ähnliche. Die Zusammensetzungen können konventionellen pharmazeutischen Behandlungen ausgesetzt werden, wie Sterilisation, und sie können gewöhnliche pharmazeutische Zusätze, wie Konservierungsmittel, stabilisierende Mittel, Befeuchtungsmittel oder Emulgatoren, Salze zum Einstellen des osmotischen Drucks, Puffer, und ähnliche, enthalten. Andere annehmbare Komponenten in der Zusammensetzung umfassen, sind aber nicht beschränkt auf, Puffer, die die Isotonizität erhöhen, wie Wasser, Kochsalzlösung, Phosphat, Citrat, Succinat, Essigsäure und andere organische Säuren und ihre Salze. Typischerweise umfasst der pharmazeutisch annehmbare Träger auch einen oder mehrere Stabilisatoren, Reduktionsmittel, Antioxidantien und/oder antioxidierende Cheliernmittel. Die Verwendung von Puffern, Stabilisatoren, Reduktionsmitteln, Antioxidantien und Chelatoren bei der Herstellung von Protein-basierten Zusammensetzungen, insbesondere pharmazeutischen Zusammensetzungen, ist im Stand der Technik wohlbekannt. Siehe Wang et al., "Review of Excipients and pHs for Parenteral Products Used in the United States", J. Parent. Drug Assn., 34(6):452-462 (1980); Wang et al., "Parenteral Formulations of Proteins and Peptides: Stability and Stabilizers", J. Parent. Sci. and Tech., 42:54-526 (Supplement 1988); Lachman et al., "Antioxidants and Chelating Agents as Stabilizers in Liquid Dosage Forms Part 1", Drug and Cosmetic Industry, 102(1):36-38, 40 und 146-148 (1968); Akers, M.J., "Antioxidants in Pharmaceutical Products", J. Parent. Sci. and Tech., 36(5):222-228 (1988); und Methods in Enzymology, Bd. XXV, Colowick und Kaplan Hrsg., "Reduction of Disulfide Bonds in Proteins with Dithiothreitol", von Konigsberg, Seiten 185-188.

**[0094]** Geeignete Puffer umfassen Acetat, Adipat, Benzoat, Citrat, Lactat, Maleat, Phosphat, Tartrat, Borat, Tri(hydroxymethylaminomethan), Succinat, Glycin, Histidin, die Salze verschiedener Aminosäuren, oder ähnliche, oder Kombinationen. Siehe Wang (1980), S. 455. Geeignete Salze und isotonisch-machende Mittel um-



fassen Natriumchlorid, Dextrose, Mannit, Saccharose, Trehalose oder ähnliche. Wenn der Träger eine Flüssigkeit ist, ist es bevorzugt, dass der Träger hypotonisch oder isotonisch mit oralen, Bindehaut- oder dermalen Flüssigkeiten ist und einen pH-Wert innerhalb des Bereichs von 4,5-8,5 aufweist. Wenn der Träger in Puderform vorliegt, ist es bevorzugt, dass der Träger ebenfalls innerhalb eines annehmbaren nichttoxischen pH-Bereichs liegt.

**[0095]** Geeignete Reduktionsmittel, welche die Reduktion von reduzierten Cysteinen aufrecht erhalten, umfassen Dithiothreitol (DTT, auch bekannt als Cleland's Reagens) oder Dithioerythrit mit 0,01% bis 0,1% Gew./Gew.; Acetylcystein oder Cystein mit 0,1% bis 0,5% (pH 2-3); und Thioglycerin bei 0,1% bis 0,5% (pH 3,5-7,0) und Glutathion. Siehe Akers (1988), Seiten 225-226. Geeignete Antioxidantien umfassen Natriumbisulfit, Natriumsulfit, Natriummetabisulfit, Natriumthiosulfat, Natriumformaldehydsulfoxylat und Ascorbinsäure. Siehe Akers (1988), S. 225. Geeignete Cheliernmittel, welche Spurenmetalle chelieren, um Spurenmetallkatalysierte Oxidation von reduzierten Cysteinen zu verhindern, umfassen Citrat, Tartrat, Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) in den jeweiligen Dinatrium-, Tetranatrium- und Calciumdinatriumsalzen, und Diethylentriaminpentaessigsäure (DTPA). Siehe z.B. Wang (1980), Seiten 457-458 und 460-461, und Akers (1988), Seiten 224-227.

**[0096]** Die Zusammensetzung kann einen oder mehrere Konservierungsmittel, wie Phenol, Cresol, Paraaminobenzoessäure, BbSA, Sorbitrat, Chlorhexidin, Benzalkoniumchlorid oder ähnliche, umfassen. Geeignete Stabilisatoren umfassen Kohlenwasserstoffe, wie Trehalose oder Glycerin. Die Zusammensetzung kann einen Stabilisator umfassen, wie beispielsweise eine oder mehrere der folgenden Verbindungen, mikrokristalline Cellulose, Magnesiumstearat, Mannit, Saccharose, um z.B. die physikalische Form der Zusammensetzung zu stabilisieren; und eine oder mehrere der Verbindungen Glycin, Arginin, hydrolysiertes Collagen oder Protease-Inhibitoren, um z.B. die chemische Struktur der Zusammensetzung zu stabilisieren. Geeignete Suspendiermittel umfassen Carboxymethylcellulose, Hydroxypropylmethylcellulose, Hyaluronsäure, Alginat, Chondroitinsulfat, Dextran, Maltodextrin, Dextransulfat oder ähnliche. Die Zusammensetzung kann einen Emulgator, wie Polysorbat 20, Polysorbat 80, Pluronic, Triolein, Sojabohnenöl, Lecithine, Squalene und Squalane, Sorbittrioleat, oder ähnliche, umfassen. Die Zusammensetzung kann ein antimikrobielles Mittel, wie Phenylethylalkohol, Phenol, Cresol, Benzalkoniumchlorid, Phenoxyethanol, Chlorhexidin, Thimerosol, oder ähnliche, umfassen. Geeignete Verdickungsmittel umfassen natürliche Polysaccharide, wie Mannane, Arabinane, Alginate, Hyaluronsäure, Dextrose oder ähnliche; und synthetische, wie PEG-Hydrogele mit niedrigem Molekulargewicht und die zuvor genannten Suspendiermittel.

**[0097]** Die Zusammensetzung kann ein Adjuvans umfassen, wie Cetyltrimethylammoniumbromid, BDSA, Cholat, Desoxycholat, Polysorbat 20 und 80, Fusidinsäure oder ähnliche, und im Falle der Verabreichung von DNA bevorzugt ein kationisches Lipid. Geeignete Zucker umfassen Glycerin, Threose, Glucose, Galactose und Mannit, Sorbit. Ein geeignetes Protein ist humanes Serumalbumin.

**[0098]** Bevorzugte Zusammensetzungen umfassen ein oder mehrere Löslichkeits-verstärkende Zusätze, bevorzugt ein Cyclodextrin; ein hydrophiles Additiv, bevorzugt ein Mono- oder Oligosaccharid; Absorptions-verstärkende Zusätze, bevorzugt ein Cholat, ein Desoxycholat, eine Fusidinsäure oder ein Chitosan; ein kationisches oberflächenaktives Mittel, bevorzugt ein Cetyltrimethylammoniumbromid; einen Viskositäts-verstärkenden Zusatz, bevorzugt um die Zeit des Verbleibs der Zusammensetzung an der Stelle der Verabreichung zu fördern, bevorzugt eine Carboxymethylcellulose, ein Maltodextrin, eine Alginsäure, eine Hyaluronsäure oder ein Chondroitinsulfat; oder eine Retard-Matrix, bevorzugt ein Polyanhydrid, ein Polyorthoester, ein Hydrogel, ein partikelförmiges Depotssystem zur langsamen Ausschüttung, bevorzugt ein Polylactit-Co-Glycolid (PLG), einen Depotfoam, eine Stärkemikrosphäre oder ein Celluloseabgeleitetes bukkales System; einen Lipid-basierten Träger, bevorzugt eine Emulsion, ein Liposom, ein Niosom oder eine Micelle. Die Zusammensetzung kann einen Doppelschichtdestabilisierenden Zusatz umfassen, bevorzugt ein Phosphatidylethanolamin; einen fusogenen Zusatz, bevorzugt ein Cholesterolhemisuccinat.

**[0099]** Andere bevorzugte Zusammensetzungen zur sublingualen Verabreichung umfassen die Verwendung eines bioadhäsiven Mittels, um das Mittel sublingual festzuhalten; ein Spray, einen Lack oder einen Tupfer, der auf die Zunge aufgebracht wird; das Zurückhalten einer sich langsam lösenden Pille oder Pastille unter der Zunge; oder ähnliches. Die Verabreichung eines Mittels über die Haut kann mittels einer Vielzahl verschiedener Verfahren, die dem Fachmann für transdermale Verabreichung bekannt sind, erreicht werden, einschließlich eines transdermalen Pflasters, einer Salbe, eines iontophoretischen Pflasters oder einer solchen Vorrichtung, und ähnliche. Andere bevorzugte Verfahren zur transdermalen Verabreichung umfassen ein bioadhäsives Mittel, um das Mittel auf oder in der Haut zurückzuhalten; ein Spray, einen Lack, ein Kosmetikum oder einen Tupfer, auf die Haut aufgebracht; oder ähnliches.

**[0100]** Diese Listen von Trägern und Zusätzen sind keinesfalls vollständig, und ein fachmännischer Praktiker kann von der GRAS ("generally regarded as safe")-Liste von Chemikalien, die für pharmazeutische Präparationen erlaubt sind, und aus jenen, die derzeit bei topischen und parenteralen Formulierungen erlaubt sind, Exipientien auswählen.

**[0101]** Für die erfindungsgemäßen Zwecke kann die pharmazeutische Zusammensetzung, die ein Mittel umfasst, in einer Einheitsdosis formuliert sein, und zwar in Form beispielsweise einer Lösung, einer Suspension oder einer Emulsion. Das Mittel kann als Puder, als Granulat, als Lösung, als Creme, als Spray (z.B. Aerosol), als Gel, als Salbe, als Infusion, als Injektion, als Tropfen oder Retard-Zusammensetzung, wie einer Polymerscheibe, in die Nasenhöhle verabreicht werden. Zur bukkalen Verabreichung können die Zusammensetzungen die Form von Tabletten oder Pastillen, die auf übliche Weise formuliert werden, annehmen. Zur Verabreichung in das Auge oder andere externe Gewebe, z.B. Mund und Haut, können die Zusammensetzungen auf den infizierten Teil des Körpers des Patienten als topische Salbe oder Creme aufgebracht werden. Die Verbindungen können in einer Salbe, z.B. mit einer wasserlöslichen Salbenbasis, oder in einer Creme, z.B. mit einer Öl-in-Wasser-Cremebasis, vorliegen. Für Bindehautanwendungen kann das neurologische Mittel in bioabbaubaren oder nicht-degradierbaren okularen Inserts verabreicht werden. Das Arzneimittel kann durch Matrixerosion oder passiv durch eine Pore, wie in Ethylen-Vinylacetat-Polymer-Inserts, ausgeschüttet werden. Für andere Mucosa-Verabreichungen, wie beispielsweise sublingual, können Puderscheiben unter die Zunge gelegt werden, und aktive Verabreichungssysteme zur Verabreichung in situ mittels langsamer Hydrierung, wie bei der Formulierung von Liposomen aus getrockneten Lipidgemischen oder Pro-Liposomen.

**[0102]** Andere bevorzugte Zusammensetzungsformen zur Verabreichung umfassen eine Partikelsuspension, wie eine Emulsion, ein Liposom, eine Einlage, die das Mittel langsam freisetzt, und ähnliche. Die Puderformen oder granulären Formen der pharmazeutischen Zusammensetzung können mit einer Lösung und mit einem Verdünnungsmittel, einem Dispersionsmittel oder einem oberflächenaktiven Mittel kombiniert werden. Zusätzliche bevorzugte Zusammensetzungen zur Verabreichung umfassen ein bioadhäsives Mittel, um das Mittel am Ort der Verabreichung zurückzuhalten; ein Sprühmittel, einen Lack oder einen Tupfer, der auf die Schleimhaut oder das Epithel aufgebracht wird; eine sich langsam lösende Tablette oder Pastille, oder ähnliches. Die Zusammensetzung kann auch in Form eines lyophilisierten Pulvers vorliegen, welches vor der Verabreichung in eine Lösung, eine Suspension oder eine Emulsion umgewandelt werden kann. Die pharmazeutische Zusammensetzung mit dem Mittel wird bevorzugt mittels Membranfiltration sterilisiert und wird in Einheitsdosis- oder Vielfachdosis-Behältern, wie versiegelten Phiolen oder Ampullen, gelagert.

**[0103]** Das Verfahren zur Formulierung einer pharmazeutischen Zusammensetzung ist im Stand der Technik allgemein bekannt. Eine gründliche Besprechung der Formulierung und der Auswahl pharmazeutisch annehmbarer Träger, Stabilisatoren und Isomolyten findet sich in Remington's Pharmaceutical Sciences (18. Ausg.; Mack Publishing Company, Eaton, Pennsylvania, 1990).

**[0104]** Das erfindungsgemäße Mittel kann auch als Retard-Form formuliert werden, um das Vorhandensein des pharmazeutisch aktiven Mittels im behandelten Säuger zu verlängern, im Allgemeinen für länger als einen Tag. Viele Verfahren der Herstellung von Retardformulierungen sind im Stand der Technik bekannt und sind in Remington's Pharmaceutical Sciences (18. Ausg.; Mack Publishing Company, Eaton, Pennsylvania, 1990) offenbart.

**[0105]** Im Allgemeinen kann das Mittel in semipermeablen Matrices fester hydrophober Polymere eingeschlossen werden. Die Matrices können zu Folien oder Mikrokapseln geformt werden. Beispiele solcher Matrices umfassen Polyester, Copolymere von L-Glutaminsäure und gamma-Ethyl-L-glutamat (Sidman et al. (1983) Biopolymers 22:547-556), Polylactide (US-Patent Nr. 3 773 919 und EP 58 481), Polylactatpolyglykolat (PLGA), wie Polylactid-Co-Glykolid (siehe z.B. US-Patente Nr. 4 767 628 und 5 654 008), Hydrogele (siehe z.B. Langer et al. (1981) J. Biomed. Mater. Res. 15:167-277; Langer (1982) Chem. Tech. 12:98-105), nicht-abbaubares Ethylen-Vinylacetat (z.B. Ethylenvinylacetat-Scheiben und Polyethylen-Co-Vinylacetat), abbaubare Milchsäure-Glykolsäure-Copolymere, wie Lupron Depot, Poly-D-(-3-Hydroxybuttersäure (EP 133 988), Hyaluronsäuregele (siehe z.B. US-Patent 4 636 524), Alginsäuresuspensionen, und ähnliche; sie sind aber nicht darauf beschränkt.

**[0106]** Geeignete Mikrokapseln können auch Hydroxymethylcellulose- oder Gelatine-Mikrokapseln und Polymethylmethacrylat-Mikrokapseln umfassen, die mittels Koazervierungstechniken oder mittels Grenzflächenpolymerisierung hergestellt wurden. Ein Mittel kann z.B. in PLGA-Mikrosphären eingekapselt sein, um eine Retard-Formulierung bereitzustellen.

**[0107]** Zusätzlich dazu können auch Mikroemulsionen oder kolloidale Arzneimittelverabreichungssysteme, wie beispielsweise Liposomen- und Albumin-Mikrosphären, verwendet werden. Siehe Remington's Pharmaceutical Sciences (18. Ausg.; Mack Publishing Company Co., Eaton, Pennsylvania, 1990). Andere bevorzugte Retard-Zusammensetzungen verwenden ein bioadhäsives Mittel, um das Mittel an der Verabreichungsstelle zurückzuhalten.

**[0108]** Unter den nicht-verbindlichen Substanzen, die mit dem Mittel in einer pharmazeutischen Zusammensetzung kombiniert werden können, finden sich auch lipophile Substanzen, die die Absorption des Mittels über die Schleimhäute oder das Epithel der Nasenhöhle oder entlang eines neuralen, lymphatischen oder perivaskulären Wegs zu beschädigten Nervenzellen im ZNS erhöhen können. Das Mittel kann mit einem lipophilen Adjuvans alleine oder in Kombination mit einem Träger gemischt werden, oder es kann mit einer oder mehreren Arten von Micellen- oder Liposomen-Substanzen kombiniert werden. Unter den bevorzugten lipophilen Substanzen befinden sich kationische Liposomen, die von einem oder mehreren der Folgenden umfasst sind: Phosphatidylcholin, Lipofectin, DOTAP, ein Lipid-Peptoid-Konjugat, ein synthetisches Phospholipid, wie Phosphatidyllysin, oder ähnliche. Diese Liposomen können andere lipophile Substanzen, wie Ganglioside und Phosphatidylserine (PS) umfassen. Ebenfalls bevorzugt sind Micellen-artige Additive, wie GM-1-Ganglioside und Phosphatidylserin (PS), welche mit dem Mittel entweder allein oder in Kombination kombiniert werden können. GM-1-Gangliosid kann zu 1-10 Molprozent in jeder liposomalen Zusammensetzung oder in höheren Mengen in micellären Strukturen enthalten sein. Proteinmittel können entweder in einer partikulären Struktur eingekapselt sein oder als Teil des hydrophoben Anteils der Struktur, abhängig von der Hydrophobizität des aktiven Mittels.

**[0109]** Eine bevorzugte liposomale Formulierung verwendet Depofoam. Ein Mittel kann in multivesikuläre Liposomen eingekapselt werden, wie in der EP-A-1 021 167 offenbart, die den Titel trägt "High and Low Load Formulations of IGF-I in Multivesicular Liposomes". Die durchschnittliche Verweildauer eines Mittels an der Verabreichungsstelle kann mit einer Depofoam-Zusammensetzung verlängert werden.

**[0110]** Wenn das Mittel ein FGF ist und das pharmazeutisch annehmbare Trägermittel ein flüssiges Trägermittel ist, kann eine typische pharmazeutische Zusammensetzung ungefähr 50 bis ungefähr 10000 ng/ml, typischerweise ungefähr 50 bis 1500 ng/ml, von einem FGF oder einem aktiven Fragment oder Mutein von diesem, 10 mM Thioglycerol, 135 mM NaCl, 10 mM Natriumcitrat und 1 mM EDTA, pH 5, umfassen. Ein geeignetes Verdünnungsmittel oder Spülmittel für die oben beschriebene Zusammensetzung ist jedes der oben beschriebenen Trägermittel. Typischerweise ist das Verdünnungsmittel die Trägerlösung selbst, was in diesem Mittel 10 mM Thioglycerol, 135 mM NaCl, 10 mM Natriumcitrat und 1 mM EDTA, pH 5, umfasst.

**[0111]** Wenn es in flüssiger Form bereitgestellt wird, kann solch ein FGF oder ein anderes Mittel, eine andere Zusammensetzung oder Einheitsdosisform instabil werden, wenn sie über ausgedehnte Zeitspannen gelagert wird. Um die Stabilität und die Lagerfähigkeit zu maximieren, sollten die pharmazeutischen Zusammensetzungen und die Einheitsdosis-Zusammensetzungen bei -60°C gefroren gelagert werden. Nach dem Auftauen kann die Lösung für 6 Monate unter gekühlten Bedingungen stabil sein. Eine typische Charge der pharmazeutischen Zusammensetzung würde ungefähr 1,0 bis 100 ml (typischerweise ungefähr 1,0 bis 25 ml; und besonders typisch ungefähr 1,0 bis 10 ml) des oben beschriebenen pharmazeutisch annehmbaren Trägermittels, das darin ungefähr 5 ng bis ungefähr 10000 ng FGF oder ein anderes Mittel oder ein aktives Fragment oder ein Mutein davon enthält, umfassen.

**[0112]** Wenn das Mittel IGF-I oder ein anderes Mittel ist, kann die pharmazeutische Zusammensetzung zusätzlich einen Löslichmacher bzw. ein Hilfslösungsmittel umfassen. Für IGF-I umfasst ein bevorzugtes Hilfslösungsmittel eine Guanidingruppe, und ein solches, das in der Lage ist, die Löslichkeit eines Mittels, wie IGF-I, zu erhöhen. Beispiele solcher Hilfslösungsmittel umfassen die Aminosäure Arginin sowie Aminosäure-Analoga von Arginin, die die Fähigkeit behalten, die Löslichkeit eines Mittels bei pH 5,5 oder höher zu erhöhen. Solche Analoga umfassen, ohne Einschränkung, Dipeptide und Tripeptide, die Arginin enthalten. Mit "die Löslichkeit eines Mittels erhöhen" ist gemeint, dass die Menge des Mittels erhöht wird, die in einer Lösung bei pH 5,5 oder höher in Anwesenheit einer Guanidin-enthaltenden Verbindung gelöst werden kann, verglichen mit der Menge eines Mittels, die bei pH 5,5 oder höher in einer Lösung mit denselben Komponenten gelöst werden kann, der aber die Guanidin-enthaltende Verbindung fehlt. Die Fähigkeit einer Guanidin-enthaltenden Verbindung, die Löslichkeit eines Mittels zu erhöhen, kann unter Verwendung von Verfahren bestimmt werden, die im Stand der Technik wohlbekannt sind. Im Allgemeinen werden die Konzentrationen des Löslichmachers bzw. des Hilfslösungsmittels in der Zusammensetzung im Bereich von ungefähr 10 mM bis ungefähr 1 M liegen, und z.B. im Falle der Verbindung Arginin in einem Konzentrationsbereich von ungefähr 20 mM bis ungefähr 200 mM.

**[0113]** Eine bevorzugte Ausführungsform der vorliegenden Zusammensetzung umfasst eine effektive Menge von NGF mit einem pharmazeutisch annehmbaren flüssigen Trägermittel, das eine geeignete Menge von Micellen enthält, die GM-1-Gangliosid umfassen. Man glaubt, dass GM-1 mit Nervenwachstumsfaktor (NGF) synergistisch beim Schutz von Neuronen und bei der Förderung von Nerven-Regeneration und -Reparatur wirkt. Eine andere bevorzugte Ausführungsform umfasst ein Antisense-Oligonucleotid zur Behandlung von Hirntumoren. Eine weitere bevorzugte Ausführungsform der Zusammensetzung umfasst die Kombination einer wirksamen Menge von basischem Fibroblasten-Wachstumsfaktor (bFGF) oder Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor I (IGF-I) mit Polyethylen-Co-Vinylacetat, um eine kontrollierte Ausschüttung der Mittel, beispielsweise zur Behandlung eines Schlaganfalls, sicherzustellen. Noch eine weitere bevorzugte Ausführungsform der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung umfasst eine liposomale Präparation von basischem Fibroblasten-Wachstumsfaktor oder ein Plasmid, das für bFGF codiert, in Kombination mit kationischen Liposomen, die Phosphatidylcholin oder Lipofectin, ein Lipid-Peptoid-Konjugat oder ein synthetisches Phospholipid, wie Phosphatidyllysin, umfassen. Eine bevorzugte Ausführungsform zur sublingualen Verabreichung der pharmazeutischen Zusammensetzung, die für kontrollierte Ausschüttung ausgestaltet ist, besteht aus Poly(ethylen-Co-Vinylacetat)-Scheiben, die Insulin-ähnlichen Wachstumsfaktor I enthalten, für Alzheimer, Schlaganfall oder Kopf- oder Rückenmarksverletzungen.

#### Verabreichung des Mittels

**[0114]** Das neurologische Mittel wird typischerweise in einer Dosis verabreicht, die ausreichend ist, um für einen therapeutisch wirksamen Spiegel in dem Teil des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks zu sorgen, der von dem Mittel profitieren kann. Bestimmte neurologische Mittel weisen biologische Aktivität bei einer Konzentration von ungefähr  $10^{-12}$  M bis ungefähr  $10^{-9}$  M, bevorzugt ungefähr  $10^{-11}$  M bis ungefähr  $10^{-9}$  M, bevorzugt ungefähr  $10^{-10}$  M, in einem Gewebe oder in der Umgebung eines Gewebes auf. Wenige der wirksamsten neurologischen Mittel (z.B. Aktivitäts-abhängiger neurologischer Faktor, ADNF) zeigen ihre biologische Aktivität in einem Bereich, der so niedrig ist wie  $10^{-15}$  M. Bevorzugte neurologische Mittel, wie NGF, IGF-I und bFGF, weisen biologische Wirkungen in den relevanten Geweben des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks bei Konzentrationen von ungefähr  $10^{-11}$  M bis ungefähr  $10^{-9}$  M auf.

**[0115]** Solch eine therapeutisch wirksame Dosis kann das neurologische Mittel zu einem Teil des ZNS, des Gehirns oder des Rückenmarks bringen, der für die Behandlung einer Funktionsstörung, einer Erkrankung oder einer Verletzung dieser Gewebe relevant ist. Z.B. kann die Abgabe eines neurologischen Mittels an die olfaktorischen Bulbi, an die Hippocampusformation und/oder den vorderen Kortex zur Behandlung von Alzheimer vorteilhaft sein. Ganz ähnlich kann die Abgabe eines neurologischen Mittels an das Mittelhirn, einschließlich der Substantia nigra und des Locus ceruleus, und/oder an den Hirnstamm zur Behandlung von Parkinson vorteilhaft sein. Bewegungsstörungen, die als Ataxien bekannt sind, können aus einer Behandlung Vorteile ziehen, die gegen das Cerebellum gerichtet ist. Ein Schlaganfall oder eine Verletzung kann die meisten Teile des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks beeinträchtigen. Die Erfindung kann verwendet werden, um therapeutisch wirksame Mengen eines neurologischen Mittels zu Teilen des Gehirns und des ZNS, einschließlich der olfaktorischen Bulbi, der Hippocampusformation, des vorderen Kortex, des Mittelhirns, des Hirnstamms und des Rückenmarks zu transportieren, welche für mehrere Funktionsstörungen oder Erkrankungen des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks relevant sind.

**[0116]** Es ist anerkannt, dass die Gesamtmenge eines neurologischen Mittels, die an ein bestimmtes Gewebe als Einheitsdosis verabreicht wird, von der Art der pharmazeutischen Zusammensetzung, die verabreicht wird, abhängen wird, d.h., davon, ob die Zusammensetzung beispielsweise in Form einer Lösung, einer Suspension, einer Emulsion oder einer Retard-Formulierung vorliegt. Z.B. wird ein neurologisches Mittel mit einer höheren Konzentration verabreicht, wenn die pharmazeutische Zusammensetzung, die eine therapeutisch wirksame Menge eines neurologischen Mittels umfasst, eine Retard-Formulierung ist.

**[0117]** Es sollte für einen Fachmann ersichtlich sein, dass Abweichungen im Hinblick auf die therapeutisch wirksame Dosis und die Häufigkeit der Verabreichung eines neurologischen Mittels in dieser Ausführungsform akzeptabel sein können. Die Menge des verabreichten neurologischen Mittels korreliert umgekehrt mit der Häufigkeit der Verabreichung. Daher wird ein Erhöhen der Konzentration eines neurologischen Mittels in einer einzeln verabreichten Dosis oder das Erhöhen der mittleren Verweilzeit im Falle einer Retard-Form eines neurologischen Mittels im Allgemeinen mit einer verminderten Häufigkeit der Verabreichung einhergehen.

**[0118]** Es ist von Fachleuten anerkannt, dass die jeweilige Dosis des neurologischen Mittels von einer Vielzahl von Faktoren abhängen wird, welche spezifisch für den Patienten sein können, welcher medikamentiert wird. Diese Faktoren sollten in Erwägung gezogen werden, wenn die therapeutisch wirksame Dosis eines neu-

rologischen Mittels und die Häufigkeit seiner Verabreichung bestimmt werden. Z.B. kann die wirksame Dosis von der Art, dem Alter, dem Gewicht oder der allgemeinen Gesundheit des Patienten abhängen; von der Schwere der Erkrankung oder der Funktionsstörung; von der Größe und Lage des Teils des Gehirns, in welchem eine effektive Menge des Mittels erreicht werden muss; von der Häufigkeit und Dauer der Medikation; von der Art der verabreichten Formulierung; von den Charakteristika, wie Lipophilie, des Mittels und der Zusammensetzung; von der Natur des Mittels und seiner Rezeptoren, wenn es welche gibt; und von ähnlichen Faktoren. Im Allgemeinen ist eine höhere Dosierung bevorzugt, wenn die Erkrankung oder die Funktionsstörung schwerer ist. Man glaubt, dass die Transportrate über ein Neuron von Art und Mittel unabhängig sein könnte.

**[0119]** Ein geringer Grad des Experimentierens kann erforderlich sein, um die effektivste Dosis und Häufigkeit der Verabreichung der Dosis zu bestimmen, wobei dies deutlich innerhalb der Fähigkeit eines Fachmanns liegt, sobald er von der vorliegenden Offenbarung in Kenntnis gesetzt ist.

#### Intermittierende Dosierung

**[0120]** In einer weiteren Ausführungsform wird die pharmazeutische Zusammensetzung, die die therapeutisch wirksame Dosis eines Mittels umfasst, intermittierend verabreicht. Mit "intermittierender Verabreichung" ist eine Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Dosis eines Mittels gemeint, die von einer Zeitspanne der Unterbrechung gefolgt ist, welche dann von einer weiteren Verabreichung einer therapeutisch wirksamen Dosis gefolgt ist, usw. Die Verabreichung der therapeutisch wirksamen Dosis kann auf kontinuierliche Weise erreicht werden, wie beispielsweise mit einer Retard-Formulierung, oder sie kann entsprechend einer wünschenswerten täglichen Dosierungskurve erreicht werden, beispielsweise mit einer, zwei, drei oder mehr Verabreichungen pro Tag. Mit "Zeitspanne der Unterbrechung" ist eine Unterbrechung der kontinuierlichen Retard-Verabreichung oder der täglichen Verabreichung eines Mittels gemeint. Die Zeitspanne der Unterbrechung kann länger oder kürzer sein als die Spanne der kontinuierlichen Retard-Verabreichung oder der täglichen Verabreichung. Während der Zeitspanne der Unterbrechung liegt der Spiegel des Mittels in dem relevanten Gewebe wesentlich niedriger als der Maximalspiegel, der während der Behandlung erzielt wird. Die bevorzugte Länge der Unterbrechungsperiode hängt von der Konzentration der wirksamen Dosis und der Form des verwendeten Mittels ab. Die Unterbrechungszeitspanne kann mindestens 2 Tage lang sein, bevorzugt ist sie mindestens 4 Tage lang, und insbesondere bevorzugt ist sie mindestens 1 Woche lang und überschreitet im Allgemeinen eine Zeitspanne von 4 Wochen nicht. Wenn eine Retard-Formulierung verwendet wird, muss die Unterbrechungszeitspanne ausgeweitet werden, um der längeren Verweilzeit des Mittels am Ort der Verletzung zu entsprechen. Alternativ dazu kann die Häufigkeit der Verabreichung der wirksamen Dosis der Retard-Formulierung entsprechend herabgesetzt werden. Ein intermittierender Verabreichungsplan eines Mittels kann fortgesetzt werden, bis die erwünschte therapeutische Wirkung, und letztlich die Behandlung der Krankheit oder der Funktionsstörung erreicht wird.

**[0121]** In noch einer weiteren Ausführungsform ist die intermittierende Verabreichung der therapeutisch wirksamen Dosis eines Mittels zyklisch. Mit "zyklisch" ist eine intermittierende Verabreichung gemeint, die mit Unterbrechungen der Verabreichung einhergeht, und zwar mit Zyklen im Bereich von ungefähr einem Monat bis ungefähr 2, 3, 4, 5 oder 6 Monaten, bevorzugt ungefähr 3 Monaten bis ungefähr 6 Monaten. Z.B. kann der Verabreichungsplan eine intermittierende Verabreichung der wirksamen Dosis eines Mittels sein, bei der eine einzelne Kurzzeitdosis einmal pro Woche für 4 Wochen gegeben wird, gefolgt von einer Unterbrechung der intermittierenden Verabreichung für eine Zeitspanne von 3 Monaten, gefolgt von einer intermittierenden Verabreichung mittels einer Verabreichung einer einzelnen Kurzzeitdosis, die einmal pro Woche für 4 Wochen gegeben wird, gefolgt von einer Unterbrechung der intermittierenden Verabreichung für eine Zeitspanne von 3 Monaten, usw. Als weiteres Beispiel kann eine einzelne Kurzzeitdosis einmal pro Woche für 2 Wochen gegeben werden, gefolgt von einer Unterbrechung der intermittierenden Verabreichung für eine Zeitspanne von 1 Monat, gefolgt von einer einzelnen Kurzzeitdosis, die einmal pro Woche für 2 Wochen gegeben wird, gefolgt von einer Unterbrechung in der intermittierenden Verabreichung für eine Zeitspanne von 1 Monat, usw. Ein zyklischer intermittierender Verabreichungsplan eines Mittels an einen Patienten kann fortgesetzt werden, bis die gewünschte therapeutische Wirkung, und letztlich die Behandlung der Funktionsstörung oder der Erkrankung erreicht wird.

#### Neuronaler Transport

**[0122]** Die Verabreichung des Mittels an den Patienten wird so durchgeführt, dass das Mittel an einem neuronalen Weg entlang zum ZNS, zum Gehirn und/oder zum Rückenmark transportiert wird. Ein neuraler Weg umfasst den Transport innerhalb oder entlang eines Neurons, durch oder mittels der Lymphbahnen, die an einem

Neuron entlang laufen, durch oder mittels eines perivaskulären Raums eines Blutgefäßes, das an einem Neuron oder neuralen Weg entlang läuft, durch oder mittels einer Tunica externa ("adventitia") eines Blutgefäßes, das an einem Neuron oder einem neuralen Weg entlang verläuft, oder über ein hämangiolympathisches System. Die Erfindung bevorzugt den Transport eines Mittels mittels eines neuralen Wegs gegenüber dem durch das zirkulatorische System, so dass Mittel, die nicht oder nur schwach in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke aus dem Blutstrom in das Hirn zu überschreiten, an das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark verabreicht werden können. Sobald einmal das Mittel die Blut-Hirn-Schranke überschritten hat und im ZNS vorliegt, kann es über lymphatische Kanäle, über einen perivaskulären Raum oder über den Transport durch oder entlang der Neuronen zu den verschiedenen Bereichen des Gehirns oder des Rückenmarks gelangen. In einer Ausführungsform akkumuliert das Mittel bevorzugt in Bereichen, die die größte Dichte von Rezeptoren oder Bindestellen für dieses Mittel aufweisen.

**[0123]** Die Verwendung eines neuralen Wegs für den Transport eines Mittels zum Gehirn, zum Rückenmark oder zu anderen Komponenten des Zentralnervensystems überwindet das Hindernis der Blut-Hirn-Schranke, so dass Medikationen, wie Nervenwachstumsfaktor (NGF), ein Protein, das normalerweise diese Barriere nicht überschreiten kann, direkt an das Gehirn, das Kleinhirn, den Hirnstamm oder das Rückenmark verabreicht werden kann. Obwohl das Mittel, das verabreicht wird, sowohl in den Blutstrom als auch in den neuralen Weg absorbiert werden kann, ruft das Mittel bevorzugt nur minimale systemische Wirkungen hervor. Zusätzlich kann die Erfindung den Transport eines stärker konzentrierten Spiegels des Mittels zu neuralen Zellen sicherstellen, da das Mittel nicht in Flüssigkeiten verdünnt wird, die im Blutstrom vorhanden sind. Derart stellt die Erfindung eine verbesserte Verabreichung eines Mittels an das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark bereit. Zusätzlich kann die Verabreichung eines therapeutischen Mittels an das ZNS mittels eines neuralen Wegs die systemische Verabreichung und unerwünschte systemische Nebenwirkungen reduzieren. Dies kann unabhängig davon zutreffen, ob das Mittel die Blut-Hirn-Schranke überschreitet oder nicht.

#### Der neurale Trigemini-Weg

**[0124]** Die vorliegende Erfindung wendet die Verabreichung des Mittels auf eine Weise an, bei der das Mittel über einen neuralen Trigemini-Weg bzw. einen Trigemini-Nerven-Weg zum ZNS, zum Gehirn und/oder zum Rückenmark transportiert wird. Daher wird das Mittel an Gewebe verabreicht, die vom Trigemini-Nerv innerviert werden und außerhalb der Nasenhöhle liegen. Der neurale Trigemini-Weg innerviert verschiedene Gewebe des Kopfes und des Gesichtes, die außerhalb der Nasenhöhle liegen, wie oben beschrieben. Insbesondere innerviert der Trigemini-Nerv die oralen Schleimhäute und die Bindehautschleimhäute oder -epithelien und die Haut des Gesichts. Die Aufbringung des Mittels auf ein Gewebe, das vom Trigemini-Nerv innerviert wird, kann das Mittel zu beschädigten Neuronen oder Zellen des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks transportieren. Trigemini-Neuronen innervieren diese Gewebe und können eine direkte Verbindung zum ZNS, zum Gehirn und/oder zum Rückenmark bereitstellen, und zwar aufgrund, so glaubt man, ihrer Rolle im allgemeinen chemischen Sinn, einschließlich der mechanischen Empfindung, der thermischen Empfindung und der Nozizeption (beispielsweise der Detektion von scharfen Gewürzen und von schädlichen Chemikalien).

**[0125]** Der Transport über den neuralen Trigemini-Weg kann sich Lymphbahnen bedienen, die zusammen mit dem Trigemini-Nerv zur Brücke und anderen Gehirnbereichen verlaufen, und von dort zu duralen Lymphbahnen, die mit Teilen des ZNS in Verbindung stehen, wie dem Rückenmark. Der Transport über den Trigemini-Nerv kann Mittel auch zu einem olfaktorischen Bulbus transportieren. Ein perivaskulärer Weg und/oder ein hämangiolympathischer Weg, wie lymphatische Kanäle, die entlang der Adventitia von zerebralen Blutgefäßen verlaufen, kann einen zusätzlichen Mechanismus für den Transport therapeutischer Mittel von Gewebe, das vom Trigemini-Nerv innerviert wird, zum Rückenmark bereitstellen.

**[0126]** Der Trigemini-Nerv umfasst Axone mit großem Durchmesser, welche das mechanische Empfinden vermitteln, z.B. Berührung, und Axone mit kleinem Durchmesser, welche Schmerz und thermale Empfinden vermitteln, wobei die Zellkörper von beiden im semilunaren (oder trigeminalen) Ganglion oder dem trigeminalen Mesencephalonkern im Mittelhirn liegen. Bestimmte Teile des Trigemini-Nervs erstrecken sich in die oralen Schleimhäute und die Bindehautschleimhaut und/oder deren Epithelien. Andere Teile des Trigemini-Nervs erstrecken sich bis in die Haut des Gesichts, der Stirn, der oberen Augenlider, der unteren Augenlider, des Nasenrückens, der Nasenflanke, der oberen Lippe, der Wange, des Kinns, der Kopfhaut und der Zähne. Einzelne Fasern des Trigemini-Nervs sammeln sich zu einem großen Bündel, verlaufen unterhalb des Gehirns und treten in die ventrale Seite der Brücke (pons) ein. Ein Mittel kann an den Trigemini-Nerv z.B. über die oralen, lingualen und/oder Bindehaut-Mucosa und/oder -Epithelien verabreicht werden; oder über die Haut des Gesichtes, der Stirn, der oberen Augenlider, der unteren Augenlider, des Nasenrückens, der Nasenflanke, der unteren Lippe, der Wange, des Kinns, der Kopfhaut und der Zähne. Solch eine Verabreichung kann extrazellulär-

ren oder intrazellulären (z.B. transneuronalen) anterograden und retrograden Transport des Mittels verwenden, das über die Trigeminusnerven in das Gehirn und seine Meningen, den Hirnstamm oder das Rückenmark eintritt. Ist das Mittel einmal in dem Gewebe oder auf dem Gewebe verteilt, welches vom Trigeminusnerv innerviert wird, kann das Mittel über das Gewebe transportiert werden und an Trigeminus-Neuronen entlang in Bereiche des ZNS, einschließlich des Hirnstamms, des Kleinhirns, des Rückenmarks, des olfaktorischen Bulbus und kortikaler und subkortikaler Strukturen wandern.

**[0127]** Die Verabreichung über den neuralen Trigeminusweg kann die Bewegung eines Mittels durch Haut, Schleimhäute oder Epithelien hinweg in den Trigeminusnerv oder in einen lymphatischen Raum, ein Blutgefäß, einen perivaskulären Raum, Blutgefäßadventitien oder Blutgefäßlymphbahnen, welche zusammen mit dem Trigeminusnerv zur Brücke und von dort in meningiale Lymphbahnen, die mit Teilen des ZNS, wie dem Rückenmark, verbunden sind, verlaufen, verwenden. Blutgefäßlymphbahnen umfassen lymphatische Kanäle, die um die Blutgefäße herum auf der Außenseite der Blutgefäße liegen. Dies wird auch als hämangiolymphatisches System bezeichnet. Die Einführung eines Mittels in Lymphbahnen des Blutgefäßes führt das Mittel nicht notwendigerweise in das Blut über.

#### Neurale Wege und transdermale Verabreichung

**[0128]** In einer Ausführungsform kann die Erfindung den Transport mittels eines neuralen Trigeminuswegs nach transdermaler Verabreichung umfassen. Nach transdermaler Verabreichung kann der Transport über den neuralen Trigeminusweg die Bewegung eines Mittels über die Haut umfassen, um einen Trigeminusnerv oder einen perivaskulären und/oder lymphatischen Kanal, der zusammen mit dem Nerv verläuft, zu erreichen.

**[0129]** Zum Beispiel kann das Mittel transdermal auf eine Weise verabreicht werden, die extrazellulären oder intrazellulären (z.B. transneuronalen) anterograden oder retrograden Transport in die Trigeminusnerven oder entlang der Trigeminusnerven verwendet, um das Gehirn, den Hirnstamm oder das Rückenmark zu erreichen. Ist das Mittel einmal in der Haut oder auf die Haut verteilt, die vom Trigeminusnerv innerviert wird, kann das Mittel durch die Haut hindurch transportiert werden und entlang der Trigeminusneuronen zu Bereichen des ZNS, einschließlich des Hirnstamms, des Kleinhirns, des Rückenmarks, eines olfaktorischen Bulbus und kortikaler und subkortikaler Strukturen wandern. Alternativ dazu kann transdermale Verabreichung zum Transport eines Mittels in einen perivaskulären Raum eines Blutgefäßes oder eine Lymphbahn führen, welche mit dem Trigeminusnerv zur Brücke, zum olfaktorischen Bulbus und anderen Gehirnbereichen wandern, und von dort zu meningialen Lymphbahnen, die mit Teilen des Gehirns, wie dem Rückenmark, in Verbindung stehen. Der Transport entlang des Trigeminusnervs kann auch transdermal verabreichte Mittel zum olfaktorischen Bulbus, Mittelhirn, Diencephalon, zur Medulla und zum Kleinhirn transportieren. Der ethmoidale Zweig des Trigeminusnervs tritt in die Siebplatte ("cribriform region") ein. Ein transdermal verabreichtes Mittel kann in die ventrale Dura des Gehirns eintreten und über bzw. in lymphatischen Kanälen innerhalb der Dura wandern.

**[0130]** Zusätzlich kann die Erfindung auf eine Weise durchgeführt werden, die einen perivaskulären Weg und/oder einen hämangiolymphatischen Weg verwendet, wie beispielsweise einen lymphatischen Kanal, der innerhalb der Adventitien eines zerebralen Blutgefäßes verläuft, um einen zusätzlichen Mechanismus für den Transport eines Mittels von der Haut zum Rückenmark bereitzustellen. Ein Mittel, das über den hämangiolymphatischen Weg transportiert wird, tritt nicht notwendigerweise in den Kreislauf ein. Lymphbahnen der Blutgefäße, die mit dem Circulus arteriosus cerebri ("circle of Willis") assoziiert sind, sowie Blutgefäße, die dem Trigeminusnerv folgen, können ebenfalls in den Transport des Mittels eingebunden sein.

**[0131]** Die transdermale Verabreichung unter Verwendung eines neuralen Wegs kann ein Mittel zum Hirnstamm, zum Kleinhirn, zum Rückenmark und zu kortikalen und subkortikalen Strukturen transportieren. Das Mittel allein kann diese Bewegung in das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark erleichtern. Alternativ dazu können das Trägermittel oder andere Transfer-fördernde Faktoren beim Transport des Mittels in den und entlang des neuralen Trigeminus-Wegs helfen. Eine transdermale Verabreichung eines therapeutischen Mittels kann die Blut-Hirn-Schranke über ein Transportsystem von der Haut zum Gehirn und zum Rückenmark umgehen.

#### Neurale Wege und sublinguale Verabreichung

**[0132]** In einer anderen Ausführungsform kann die Erfindung die Verabreichung über einen neuralen Trigeminus-Weg nach sublingualer Verabreichung verwenden. Nach sublingualer Verabreichung kann sich die Verabreichung über den neuralen Trigeminus-Weg der Bewegung eines Mittels von unter der Zunge durch das linguale Epithel hindurch bedienen, um einen Trigeminusnerv oder einen perivaskulären oder lymphatischen

Kanal, der entlang dieses Nervs verläuft, zu erreichen.

**[0133]** Z.B. kann das Mittel sublingual auf eine Weise verabreicht werden, die extrazellulären oder intrazellulären (z.B. transneuronalen), anterograden und retrograden Transport über die oralen Schleimhäute und dann in die Trigeminusnerven und entlang der Trigeminusnerven umfasst, um das Gehirn, den Hirnstamm oder das Rückenmark zu erreichen. Ist das Mittel einmal sublingual verabreicht, kann das Mittel über die oralen Schleimhäute mittels der peripheren Prozesse der Trigeminusneuronen in Bereiche des ZNS gelangen, einschließlich des Hirnstamms, des Rückenmarks und kortikaler und subkortikaler Strukturen. Alternativ dazu kann die sublinguale Verabreichung zum Transport eines Mittels in Lymphbahnen führen, die zusammen mit dem Trigeminusnerv zur Brücke und zu anderen Gehirnbereichen und von dort in meningeale Lymphbahnen führen, welche mit Teilen des ZNS, wie dem Rückenmark, verbunden sind. Der Transport über den Trigeminusnerv kann auch sublingual verabreichte Mittel zu den olfaktorischen Bulbi, zum Mittelhirn, zum Diencephalon, zur Medulla und zum Kleinhirn transportieren. Der ethmoidale Zweig des Trigeminusnervs tritt in die Siebplattenregion ein. Ein sublingual verabreichtes Mittel kann in die ventrale Dura des Gehirns eintreten und über lymphatische Kanäle innerhalb der Dura wandern.

**[0134]** Zusätzlich kann die Erfindung auf eine Weise durchgeführt werden, die sich eines hämangiolymphatischen Wegs bedient, wie eines lymphatischen Kanals, der innerhalb der Adventitien eines zerebralen Blutgefäßes verläuft, um einen zusätzlichen Mechanismus für den Transport eines Mittels von der oralen Submucosa zum Rückenmark bereitzustellen. Ein Mittel, das über den hämangiolymphatischen Weg transportiert wird, tritt nicht notwendigerweise in den Blutkreislauf ein. Lymphbahnen von Blutgefäßen, die mit dem Circulus arteriosus cerebri assoziiert sind, sowie Blutgefäße, die dem Trigeminusnerv folgen, können ebenfalls in den Transport des Mittels involviert sein.

**[0135]** Die sublinguale Verabreichung, die einen neuralen Weg verwendet, kann ein Mittel zum Stammhirn, zum Kleinhirn, zum Rückenmark und zu kortikalen und subkortikalen Strukturen transportieren. Das Mittel allein kann diese Bewegung in das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark erleichtern. Alternativ dazu kann das Trägermittel oder andere Transfer-fördernde Faktoren beim Transport des Mittels in den neuralen Trigeminusweg und entlang des neuralen Trigeminus-Wegs helfen. Die sublinguale Verabreichung eines therapeutischen Mittels kann die Blut-Hirn-Schranke über ein Transportsystem von der oralen Mucosa zum Gehirn und zum Rückenmark umgehen.

#### Neurale Wege und Bindehautverabreichung

**[0136]** In einer anderen Ausführungsform kann die Erfindung einen Transport über einen neuralen Trigeminus-Weg verwenden, und zwar nach Bindehautverabreichung. Nach Bindehautverabreichung kann der neurale Trigeminus-Weg die Bewegung eines Mittels von der Bindehaut über das Bindehautepithel umfassen, um die Trigeminusnerven oder die lymphatischen Kanäle, die mit dem Nerv verlaufen, zu erreichen.

**[0137]** Z.B. kann das Mittel über die Bindehaut verabreicht werden, und zwar auf eine Weise, die extrazellulären oder intrazellulären (z.B. transneuronalen), anterograden und retrograden Transport über die Bindehautschleimhaut und dann in die Trigeminusnerven und über die Trigeminusnerven verwendet, um das Gehirn, den Hirnstamm oder das Rückenmark zu erreichen. Ist das Mittel einmal über die Bindehaut verabreicht, kann das Mittel über die Schleimhäute der Bindehaut mittels der peripheren Prozesse von trigeminalen Neuronen in Bereiche des ZNS transportiert werden, die den Hirnstamm, das Rückenmark und kortikale und subkortikale Strukturen umfassen. Alternativ dazu kann die Verabreichung über die Bindehaut zum Transport eines Mittels in Lymphbahnen führen, die zusammen mit dem Trigeminusnerv zur Brücke und zu anderen Hirnbereichen und von dort in meningeale Lymphbahnen, die mit Teilen des ZNS, wie dem Rückenmark, verbunden sind, verlaufen. Der Transport entlang des Trigeminusnervs kann auch über die Bindehaut verabreichte Mittel zu den olfaktorischen Bulbi, zum Mittelhirn, zum Diencephalon, zur Medulla und zum Kleinhirn transportieren. Der ethmoidale Zweig des Trigeminusnervs tritt in die Siebplattenregion ein. Ein Mittel, das über die Bindehaut verabreicht wurde, kann in die ventrale Dura des Gehirns eintreten und in lymphatischen Kanälen innerhalb der Dura wandern.

**[0138]** Zusätzlich kann die Erfindung auf eine Weise durchgeführt werden, die einen hämangiolymphatischen Weg verwendet, wie einen lymphatischen Kanal, der innerhalb der Adventitien eines zerebralen Blutgefäßes verläuft, um einen zusätzlichen Mechanismus für den Transport eines Mittels von der Submucosa der Bindehaut zum Rückenmark bereitzustellen. Ein Mittel, das über den hämangiolymphatischen Weg transportiert wird, tritt nicht notwendigerweise in den Blutkreislauf ein. Lymphbahnen von Blutgefäßen, die mit dem Circulus arteriosus cerebri assoziiert sind, sowie Blutgefäße, die dem Trigeminusnerv folgen, können in den Transport



des Mittels involviert sein.

**[0139]** Die Verabreichung über die Bindehaut unter Verwendung eines neuralen Wegs kann ein Mittel zum Hirnstamm, zum Kleinhirn, zum Rückenmark und zu kortikalen und subkortikalen Strukturen transportieren. Das Mittel allein kann diese Bewegung in das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark erleichtern. Alternativ dazu kann das Trägermittel oder andere Transfer-fördernde Faktoren beim Transport des Mittels in den neuralen Trigeminiweg und entlang des neuralen Trigeminiwegs helfen. Die Verabreichung eines therapeutischen Mittels über die Bindehaut kann die Blut-Hirn-Schranke über ein Transportsystem von der Schleimhaut der Bindehaut zum Gehirn und zum Rückenmark umgehen.

#### Funktionsstörungen des Zentralnervensystems

**[0140]** Das vorliegende Verfahren kann verwendet werden, um Mittel zum Hirn für Zwecke der Diagnose, der Behandlung oder der Prävention von Funktionsstörungen oder Erkrankungen des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks zu transportieren. Diese Funktionsstörungen können neurologische oder psychiatrische Funktionsstörungen sein. Diese Funktionsstörungen oder Erkrankungen umfassen Hirnfunktionsstörungen, wie Alzheimer, Parkinson, Lewy body-Demenz, Multiple Sklerose, Epilepsie, zerebrale Ataxie, progressive supranukleäre Lähmung, amyotrophische laterale Sklerose, Gemütskrankheiten, Angstzustände, obsessive Zwangshandlungen und Zwangsfunktionsstörungen, Persönlichkeitsstörungen, Aufmerksamkeit-Defizit-Syndrom, Aufmerksamkeit-Defizit-Hyperaktivitäts-Syndrom, Tourette-Syndrom, Tay-Sachs, Nieman-Pick und andere Lipidstoffwechsel- und genetische Hirn-Erkrankungen und/oder Schizophrenie. Das Verfahren kann auch verwendet werden bei Patienten, die an Nervenschäden aufgrund von zerebrovaskulären Funktionsstörungen, wie einem Schlag im Gehirn oder im Rückenmark, an ZNS-Infektionen einschließlich Meningitis und HIV, an Tumoren des Gehirns und des Rückenmarks, leiden, oder an einer Prionen-Erkrankung, oder welche in dieser Hinsicht gefährdet sind. Das Verfahren kann auch verwendet werden, um Mittel zu verabreichen, um ZNS-Funktionsstörungen zu begegnen, die von gewöhnlicher Alterung (z.B. Anosmie oder Verlust des allgemeinen chemischen Sinns), Gehirnverletzung oder einer Verletzung des Rückenmarks herrühren.

**[0141]** Die vorliegende Erfindung kann verwendet werden, um Mittel zum Hirn für die Diagnose, die Behandlung oder Prävention von neurodegenerativen Funktionsstörungen zu transportieren. Die sublinguale, Bindehaut- oder transdermale Verabreichung eines Mittels an periphere Nervenzellen des Trigemini-Wegs oder anderer sensorischer neuraler Wege, die die Haut oder die Bindehaut oder orale Schleimhäute innervieren, behauptete Eintrittswege für ursächliche Agentien von Gehirnerkrankungen, kann dabei helfen, gegen eine Erkrankung in diesen Nervenzellen zu schützen und verletzte Nervenzellen zu regenerieren, und dabei die nachfolgende Ausbreitung einer Erkrankung auf empfängliche Bereiche des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks zu verhindern.

**[0142]** Das Ausbringen eines Mittels auf das sublinguale, Bindehaut- oder fasciale Epithel kann auch dabei helfen, die Ausbreitung bestimmter Erkrankungen des ZNS, des Gehirns und/oder des Rückenmarks zu verhindern, indem periphere Zellen und Neuronen, die von Neurotoxinen und anderen Angriffen verletzt wurden, direkt behandelt werden. Die prophylaktische Behandlung dieser außenliegenden Nervenzellen hilft, den Eintritt von Krankheits-verursachenden Mitteln in das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark auszuschließen. Diese Behandlung ist besonders vorteilhaft in Fällen der Alzheimer-Erkrankung, bei denen man vermutet, dass ein Umweltfaktor eines der ursächlichen Agentien dieser Erkrankung ist. Das Aufbringen eines Mittels auf die sensorischen Neuronen behandelt oder verhindert zum Teil auch den Verlust des Geruchsinns oder des allgemeinen chemischen Sinns, was mit neurodegenerativen Funktionsstörungen und dem gewöhnlichen Altern in Verbindung stehen kann.

**[0143]** Die Behandlung der Parkinson-Erkrankung kann ebenfalls eine wichtige Anwendung des vorliegenden Verabreichungsverfahrens sein, da der Trigemini-nerven-Weg Neurotrophine und andere therapeutische Agentien von der Mundhöhle, der Bindehaut oder der Haut zur Brücke im Hirnstamm transportieren kann. Das therapeutische Hauptziel im Gehirn bei Parkinson ist die Substantia nigra, welche sich über die dorsale Oberfläche des Hirnstiels von der rostralen Grenze über die Brücke bis zum Nucleus subthalamicus erstreckt. Andere therapeutische Zielbereiche sind der Locus ceruleus, welcher in der rostralen Brückenregion liegt, und der ventrale Tegmentalbereich, welcher dorsomedial zu der Substantia nigra liegt.

**[0144]** Eine "wirksame Menge" eines Mittels ist eine Menge, die ausreicht, um die Symptome und/oder die zugrundeliegenden Ursachen von einer der oben genannten Funktionsstörungen oder Erkrankungen zu behandeln, zu reduzieren und/oder zu verbessern. In einigen Beispielen ist eine "wirksame Menge" ausreichend, um die Symptome dieser Erkrankungen zu eliminieren, und vielleicht, um die Erkrankung selbst zu überwin-

den. Im Zusammenhang der vorliegenden Erfindung beziehen sich die Begriffe "behandeln" und "Therapie" und ähnliche auf Linderung, Verlangsamen des Fortschreitens, Prophylaxe, Abschwächung oder Heilung von bestehenden Erkrankungen. Wie hier verwendet, bezieht sich Vorbeugen bzw. Vermeiden auf Hinausschieben, Verzögern, Verlangsamen, Verhindern oder auf andere Weise stoppen, Vermindern oder Lindern des Ausbruchs bzw. der Entstehung solcher Gehirnerkrankungen oder -funktionsstörungen. Es ist bevorzugt, dass eine ausreichend große Menge des Mittels mit nicht-toxischen Spiegeln angewandt wird, um einen wirksamen Spiegel der Aktivität gegen die Erkrankung innerhalb des neuralen Systems bereitzustellen. Die vorliegende Erfindung kann bei jedem Säuger verwendet werden. Beispielhafte Säugetiere umfassen Ratten, Katzen, Hunde, Pferde, Kühe, Schafe, Schweine und bevorzugter Menschen, sie sind aber nicht auf diese beschränkt.

#### Gegenstände und Verfahren zur Herstellung

**[0145]** Die vorliegende Erfindung kann einen Gegenstand zur Herstellung verwenden, der ein Mittel zur Verabreichung an das ZNS, das Gehirn und/oder das Rückenmark bereitstellt. Der Gegenstand zur Herstellung kann eine Phiole oder einen anderen Behälter umfassen, welcher eine Zusammensetzung enthält, die für das vorliegende Verfahren geeignet ist, und zwar zusammen mit irgendeinem Trägermittel, entweder getrocknet oder in flüssiger Form. Der Gegenstand zur Herstellung umfasst weiter Anweisungen in Form eines Aufklebers auf dem Behälter und/oder in Form einer Beilage, die in einer Schachtel enthalten ist, in die der Behälter verpackt ist, für die Ausführung des erfindungsgemäßen Verfahrens. Die Anweisungen können auch auf die Schachtel aufgedruckt sein, in welche die Phiole verpackt ist. Die Anweisungen enthalten Informationen, wie ausreichende Dosierung und Verabreichungsinformationen, um es dem Patienten oder einer Arbeitskraft auf diesem Gebiet zu ermöglichen, das Mittel zu verabreichen. Es wird vorausgesetzt, dass eine Arbeitskraft in diesem Gebiet jeden Arzt, jede Krankenschwester, jede Fachkraft, jeden Ehepartner oder jeden anderen Pfleger umfasst, der/die das Mittel verabreichen könnte. Das Mittel kann auch vom Patienten selbst verabreicht werden.

**[0146]** Erfindungsgemäß kann ein Mittel zur Herstellung einer Mittelzusammensetzung oder eines Medikamentes verwendet werden, welche/welches zur Bindehaut-, transdermalen und/oder sublingualen Verabreichung geeignet ist. Z.B. kann eine Flüssigkeit oder eine feste Zusammensetzung auf verschiedene Weise hergestellt werden, und zwar unter Verwendung herkömmlicher Techniken. Eine flüssige Zusammensetzung kann hergestellt werden, indem ein Mittel in einem geeigneten Lösungsmittel, wie Wasser, bei einem geeigneten pH-Wert, das gegebenenfalls Puffer oder andere Exzipientien umfasst, gelöst wird, z.B. um eine Lösung zu bilden, wie hierin oben beschrieben.

**[0147]** Die vorliegende Erfindung ist vielleicht besser unter Bezugnahme auf die folgenden Beispiele zu verstehen.

#### Beispiele

Beispiel 1-Sublinguale Verabreichung von Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor I an das zentrale Nervensystem (Gehirn und Rückenmark)

#### Einleitung

**[0148]** Ein neurologisches Mittel sublingual zu verabreichen, ist ein wirksamer Weg, um dieses Mittel zum Gehirn und zum Rückenmark eines Säugers zu transportieren.

#### Material und Methoden

**[0149]** Männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 200-310 g wurden intraperitoneal mit Pentobarbital (40 mg/kg) betäubt. Der Transport des Arzneimittels zum Gehirn und zum Rückenmark wurde nach sublingualer Verabreichung von 7,4 nmol von  $^{125}\text{I}$ -IGF-I in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung mit einem pH-Wert von 7,4 untersucht. Die Ratten wurden auf ihren Bäuchen gelagert, mit erhöhtem Hinterteil und niedrig gelagertem Maul.  $^{125}\text{I}$ -IGF-I (7,4 nmol) auf einem schmalen Streifen Filterpapier wurde unter der Zunge platziert. Solche Verfahren zur sublingualen Verabreichung sind im Stand der Technik bekannt. Purushotham et al., Am J. Physiol. 269, G867-G873 (1995). Die Ratten wurden anschließend einer Perfusionsfixierung, die innerhalb der Minuten nach der Vervollständigung der  $^{125}\text{I}$ -IGF-I-Verabreichung folgte, unterzogen. Die Perfusionsfixierung wurde mit 50-100 ml physiologischer Kochsalzlösung, gefolgt von 500 ml Fixiermittel mit 1,25% Glutaraldehyd und 1 % Paraformaldehyd in 0,1 M Sorenson's Phosphatpuffer, pH 7,4, durchgeführt, und zwar vor der Dissektion und der  $^{125}\text{I}$ -Messung mittels Gammazähler. Die dissezierten Bereiche umfassten ausge-

wählte Hirnregionen sowie der Cervix-, Thorax- und Sakralregionen des Rückenmarks.

#### Ergebnisse

**[0150]** Das schnelle Auftauchen des neurologischen Mittels im Gehirn und im Rückenmark wurde mittels der Bestimmung der Radioaktivität beobachtet. Die Konzentration des neurologischen Mittels war in der cervikalen Region des Rückenmarks höher als in der Thoraxregion und in der Thoraxregion höher als in der Lenden- oder Sakralregion.

**[0151]** Höhere Konzentrationen des neurologischen Mittels fand man in den Hirnhäuten (den Meningen) oder der Dura, die jedes der folgenden Gebilde umgaben: den olfaktorischen Bulbus, die dorsalen und ventralen Regionen des Gehirns, den Trigeminusnerv und das obere cervikale Rückenmark. Das IGF fand man auch im olfaktorischen Bulbus, im Rückenmark und im Hirnstamm. Der Trigeminusnerv selbst, welcher die Zunge innerviert, enthielt hohe Konzentrationen des neurologischen Mittels.

#### Schlussfolgerungen

**[0152]** Die Ergebnisse zeigten, dass die sublinguale Verabreichung ein effektives Verfahren für den Transport eines neurologischen Mittels, wie IGF-I, zum Gehirn, zum Trigeminusnerv und zum Rückenmark ist.

Beispiel 2 – Transdermale Verabreichung von Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor I an das zentrale Nervensystem (Gehirn und Rückenmark)

#### Einleitung

**[0153]** Die transdermale Verabreichung eines neurologischen Mittels ist ein wirksamer Weg, um dieses Mittel zum Gehirn und zum Rückenmark eines Tieres zu transportieren.

#### Material und Methoden

**[0154]** Männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 200-310 g wurden intraperitoneal mit Pentobarbital (40 mg/kg) betäubt. Der Transport des Arzneimittels zum Gehirn und zum Rückenmark wurde nach transdormaler Verabreichung von 7,4 nmol von  $^{125}\text{I}$ -IGF-I in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung mit einem pH-Wert von 7,4 untersucht. Die Ratten wurden auf ihren Bäuchen gelagert, mit erhöhtem Hinterteil und niedrig gelagertem Maul.  $^{125}\text{I}$ -IGF-I (7,4 nmol) wurde auf die Haut des Gesichtes der Ratten aufgebracht. Die Ratten wurden anschließend innerhalb der Minuten nach der Vervollständigung der  $^{125}\text{I}$ -IGF-I-Verabreichung einer Perfusionsfixierung unterzogen. Die Perfusionsfixierung wurde mit 50-100 ml physiologischer Kochsalzlösung, gefolgt von 500 ml Fixiermittel, enthaltend 1,25% Glutaraldehyd und 1 % Paraformaldehyd in 0,1 M Sorenson's Phosphatpuffer, pH 7,4, unterzogen, und zwar vor der Dissektion und  $^{125}\text{I}$ -Messung mittels Gammazähler. Die dissektierten Bereiche umfassten ausgewählte Hirnregionen sowie die Cervix-, Thorax- und Sakralregionen des Rückenmarks.

#### Ergebnisse

**[0155]** Das schnelle Auftauchen des neurologischen Mittels im Hirn und im Rückenmark wird mittels der Bestimmung der Radioaktivität beobachtet.

#### Schlussfolgerungen

**[0156]** Die Ergebnisse zeigen, dass die transdermale Verabreichung ein wirksames Verfahren zum Transport von neurologischen Mitteln, wie IGF-I, zum Gehirn, zum Trigeminusnerv und zum Rückenmark, ist.

Beispiel 3 – Netzhaut-Verabreichung von Insulin-ähnlichem Wachstumsfaktor I an das zentrale Nervensystem (Gehirn und Rückenmark)

#### Einleitung

**[0157]** Verabreichung eines neurologischen Mittels über die Bindehaut ist ein wirksamer Weg, um dieses Mittel zum Gehirn und zum Rückenmark eines Tieres zu transportieren.

## Material und Methoden

**[0158]** Männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 200-310 g wurden intraperitoneal mit Pentobarbital (40 mg/kg) betäubt. Der Transport des Arzneimittels zum Gehirn und zum Rückenmark wurde nach transdermaler Verabreichung von 7,4 nmol von  $^{125}\text{I}$ -IGF-I in Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung mit einem pH-Wert von 7,4 untersucht. Die Ratten wurden auf ihren Bäuchen gelagert, mit erhöhtem Hinterteil und niedrig gelagertem Maul.  $^{125}\text{I}$ -IGF-I (7,4 nmol) wurde auf die unteren Augenlider der Ratten aufgebracht. Die Ratten wurden anschließend innerhalb der Minuten nach der Vervollständigung der  $^{125}\text{I}$ -IGF-I-Verabreichung einer Perfusionsfixierung unterzogen. Die Perfusionsfixierung wurde mit 50-100 ml physiologischer Kochsalzlösung, gefolgt von 500 ml Fixiermittel enthaltend 1,25% Glutaraldehyd und 1% Paraformaldehyd in 0,1 M Sorenson's Phosphatpuffer, pH 7,4, durchgeführt, und zwar vor der Dissektion und  $^{125}\text{I}$ -Messung mittels gamma-Zähler. Die dissektierten Bereiche umfassten ausgewählte Hirnregionen sowie die Cervix-, Thorax- und Sakralregionen des Rückenmarks.

## Ergebnisse

**[0159]** Das schnelle Auftauchen des neurologischen Mittels im Gehirn und im Rückenmark wird mittels der Bestimmung der Radioaktivität beobachtet.

## Schlussfolgerungen

**[0160]** Die Ergebnisse zeigen, dass die Verabreichung über die Bindehaut ein wirksames Verfahren zum Transport von neurologischen Mitteln, wie IGF-I, zum Gehirn, zum Trigeminusnerv und zum Rückenmark, sein kann.

**[0161]** Es sollte angemerkt werden, dass die Singularformen "ein/eine" und "der/die/das", wie sie in der Beschreibung und den Ansprüchen verwendet werden, Pluralbezüge umfassen, wenn nicht der Zusammenhang eindeutig etwas anderes vorgibt. Daher umfasst z.B. die Bezugnahme auf eine Zusammensetzung, die "eine Verbindung" enthält, ein Gemisch von zwei oder mehr Verbindungen.

**[0162]** Alle Veröffentlichungen und Patentanmeldungen in dieser Beschreibung zeigen das Fachwissen in dem Gebiet an, zu dem diese Erfindung gehört.

## Patentansprüche

1. Verwendung eines neurologischen Wirkstoffs bei der Herstellung eines Medikaments zur Verwendung in einem Verfahren zum Abgeben des neurologischen Wirkstoffes an das Zentralnervensystem eines Säugers, der die Behandlung einer Krankheit des zentralen Nervensystems nötig hat, wobei das Medikament in oder auf einem Gewebe des Säugers, das durch den Drillingsnerv innerviert ist und außerhalb der Nasenhöhle des Säugers verteilt wird, wobei der neurologische Wirkstoff ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Neurotrophinen, Nervenwachstumsfaktor (NGF), Neurotrophin 3 (NT-3), Neurotrophin 4 (NT-4), Neurotrophin 5 (NT-5), aus dem Gehirn stammendem neurotrophen Faktor (BDNF), Fibroblasten-Wachstumsfaktoren, basischem Fibroblasten-Wachstumsfaktor, Insulin, insulinartigen Wachstumsfaktoren, insulinartigem Wachstumsfaktor I (IGF-I), insulinartigem Wachstumsfaktor II (IGF-II), von Glia stammendem neurotrophen Faktor (GDNF), von Glia stammendem Nexin, Gangliosiden, Phosphatidylserin und Kombinationen davon.

2. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der neurologische Wirkstoff an eine Hippocampusformation, einen Mandelkern, einen Nucleus basalis nach Meynert, einen Locus ceruleus, Hirnstammrhaphekerne oder eine Kombination davon, abgegeben wird.

3. Verwendung nach Anspruch 1, wobei der neurologische Wirkstoff an ein Rückenmark, einen Hirnstamm, eine kortikale Struktur, eine subkortikale Struktur oder eine Kombination davon, abgegeben wird.

4. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 3, wobei der neurologische Wirkstoff an Lymphgefäße, assoziiert mit dem Zentralnervensystem, abgegeben wird.

5. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Gewebe Haut ist.

6. Verwendung nach Anspruch 5, wobei das Medikament in oder auf Haut im Gesicht auf, der Stirn, einem oberen Augenlid, einem unteren Augenlid, einem Nasenrücken, einer Nasenseite, einer Oberlippe, einer Wan-

ge, einem Kinn, einer Kopfhaut, oder einer Kombination davon verteilt wird.

7. Verwendung nach irgendeinem der Ansprüche 1 bis 4, wobei das Gewebe ausgewählt ist aus der Gruppe, bestehend aus der Mucosa eines unteren Augenlids, der Mucosa eines oberen Augenlids, einer Konjunktiva, oralem Gewebe, gingivalem Gewebe, den anterioren zwei Dritteln der Zunge, der Mucosa einer Wange und der Mucosa der Ober- oder Unterlippe.

Es folgt kein Blatt Zeichnungen