(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 989 745**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/4045 (2006.01)
A61K 38/05 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61K 38/02 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
A61P 27/06 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.06.2013 E 20180945 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2024 EP 3756665**

(54) Título: **Terapia de intervalos para el tratamiento de enfermedades oculares**

(30) Prioridad:

20.06.2012 US 201261661971 P
20.06.2012 EP 12004638

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.11.2024

(73) Titular/es:

RAMOT AT TEL-AVIV UNIVERSITY LTD. (100.0%)
P.O. Box 39296
Tel-Aviv 6139201, IL

(72) Inventor/es:

RUSS, HERMANN;
DANYSZ, WOJCIECH y
PARSONS, CHRISTOPHER GRAHAM RAPHAEL

(74) Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

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

DESCRIPCIÓN

Terapia de intervalos para el tratamiento de enfermedades oculares

CAMPO DE LA INVENCIÓN

[0001] La presente invención se refiere a compuestos para su uso en la prevención y el tratamiento de trastornos oculares, en particular glaucoma y degeneración macular, mediante la modulación de los efectos tóxicos de los derivados de β-amiloide (Aβ), composiciones farmacéuticas para efectuar dicha prevención y tratamiento de los mismos, y administración específica eficaz para dicho tratamiento.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

[0002] Los estudios han demostrado que el glaucoma es la segunda causa principal de ceguera en los Estados Unidos [Leske MC. The epidemiology of open-angle glaucoma: a review. Am J Epidemiology 1983; 118: 166-191]. El correlato patológico del glaucoma es la degeneración progresiva de las células ganglionares de la retina (CGR) y sus axones que forman el nervio óptico.

[0003] La clasificación del glaucoma incluye los siguientes tipos diferentes: glaucoma primario de ángulo cerrado, glaucoma secundario de ángulo abierto, glaucoma inducido por esteroides, glaucoma traumático, síndrome de dispersión pigmentaria, síndrome de pseudoexfoliación, glaucoma secundario de ángulo cerrado, glaucoma neovascular, uveítis y glaucoma y otras patologías oculares no especificadas.

[0004] De manera similar, la degeneración macular es una afección que implica una patología de la retina que también se ha atribuido a la aparición de β-amiloide y conduce a una pérdida progresiva de la visión, que conduce finalmente a la ceguera.

[0005] En el pasado, la definición de glaucoma incluía una elevación de la presión intraocular (PIO) por encima de un rango normal. Sin embargo, muchos individuos con PIO claramente elevada no desarrollan glaucoma, y hasta el 50% de los pacientes con glaucoma no tienen una PIO aumentada.

[0006] Los medicamentos disponibles actualmente para el tratamiento del glaucoma pertenecen a varias clases farmacológicas, incluyendo bloqueadores β-adrenérgicos, agonistas colinérgicos, inhibidores de la anhidrasa carbónica y agonistas alfa2. Todos ellos actúan bajo un mecanismo por el cual se reduce la PIO. Estas terapias existentes se administran típicamente en forma de gotas para los ojos. Los hiperosmóticos se pueden administrar por vía intravenosa para el tratamiento de emergencia. Además, la terapia láser y los enfoques quirúrgicos se aplican en casos especiales.

[0007] Independientemente de la terapia, después de 20 años de seguimiento en pacientes con glaucoma, la ceguera relacionada con el glaucoma habrá alcanzado el 27% en al menos un ojo y el 9% en ambos ojos [Hattenhauer MG, Johnson DH, Ing HH, et al. The probability of blindness from open-angle glaucoma. Ophthalmology 1998;105: 2099-2104]. Por lo tanto, existe una importante necesidad médica no satisfecha de estrategias de tratamiento alternativas. En particular, en el caso de pacientes con daño glaucomatoso progresivo con una presión intraocular normalizada, se necesita una terapia centrada en la degeneración de las células ganglionares de la retina.

[0008] Existen diferentes teorías sobre la causa de la degeneración de las células ganglionares de la retina, incluidos mecanismos mecánicos, vasculares y excitotóxicos. Recientemente, se ha descubierto que el β-amiloide (Aβ) se co-localiza con las células ganglionares de la retina moribundas [McKinnon SJ. Glaucoma: Ocular Alzheimer's disease? Front Biosci. 2003; 8: 1140-1156; Yoneda S, Hara H, Hirata A, Fukushima M, Inomata Y, Tanihara H. Vitreous fluid levels of beta-amyloid(1-42) and tau in patients with retinal diseases. Jpn J Ophthalmol. 2005; 49(2): 106-108]. Los estudios en animales demuestran que, en particular, los oligómeros de péptidos solubles Aβ1-42 son toxinas muy potentes para las células ganglionares de la retina [Dahlgren KN, Manelli AM, Stine WB Jr, Baker LK, Krafft GA, LaDu MJ. Oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptides differently affect neuronal viability. J Biol Chem. 2002; 277(35): 32046-32053; Guo L, Salt TE, Luong V, Wood N, Cheung W, Maass A, Ferrari G, Russo-Marie F, Sillito AM, Cheetham ME, Moss SE, Fitzke FW, Cordeiro F. Targeting amyloid-β in glaucoma treatment. PNAS 2007; 104 (33): 13444-13449].

[0009] Se encuentran en desarrollo múltiples tratamientos potenciales dirigidos a Aβ. El mecanismo común de estos enfoques es contrarrestar los efectos perjudiciales de Aβ, ya sea evitando su formación (por ejemplo, inhibidores de la secretasa APP), neutralizando Aβ a través de anticuerpos o interfiriendo con la agregación de Aβ. El último mecanismo es de creciente interés dentro de la comunidad científica ya que los datos de modelos animales muestran claramente efectos beneficiosos de los inhibidores de la agregación de Aβ o moduladores de la agregación de Aβ sobre la neurotoxicidad inducida por Aβ.

[0010] Se ha demostrado que la inhibición de las especies de agregación neurotóxicas de Aβ reduce la degeneración glaucomatosa de las células ganglionares de la retina [Guo, et al., PANS 2007, 13444]. Los inhibidores utilizados en estos experimentos con animales fueron rojo Congo y anticuerpos Aβ. Estos agentes son solo herramientas de investigación farmacológica y no son apropiados para el tratamiento de humanos por varias razones.

[0011] Sería una ventaja proporcionar nuevos métodos para la prevención y el tratamiento de trastornos oculares, en particular glaucoma y degeneración macular, y composiciones farmacéuticas para efectuar dicha prevención y tratamiento de los mismos. De acuerdo con el conocimiento científico actual, los inhibidores de la agregación de Aβ o moduladores de la agregación de Aβ se administran de forma continua durante largos períodos de tiempo para provocar un efecto neuroprotector terapéuticamente relevante. Se entiende que la interrupción de la terapia, incluso durante un período corto, conduce a la situación de que, en ausencia del inhibidor/modulador, la agregación neurotóxica se reinicia inmediatamente y la enfermedad progresa (potencialmente incluso más).

[0012] Además, el tratamiento de afecciones oculares asociadas a Aβ, como el glaucoma o la degeneración macular, a menudo requiere vías de dosificación que implican pasos incómodos, como inyecciones intravítreas. En consecuencia, existe la necesidad de mejorar el cumplimiento del paciente y el bienestar general.

[0013] Sería una clara ventaja para los pacientes si los efectos neuroprotectores pudieran lograrse mediante una terapia de intervalo caracterizada por una primera dosis efectiva seguida de dosis "de refuerzo" con la posibilidad de períodos libres de fármaco entre ellas, en lugar de mediante un régimen de dosificación estrictamente continuo. Por supuesto, un programa de dosificación de este tipo también debería garantizar el mejor resultado clínico posible de la terapia.

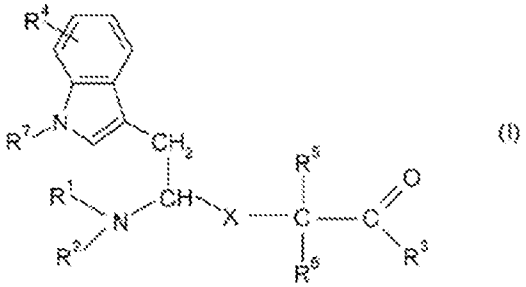
[0014] La solicitud internacional PCT n.º PCT/EP2008/006888 revela que los moduladores de agregación de Aβ pueden producir un efecto neuroprotector terapéuticamente relevante en el tratamiento del glaucoma.

[0015] Con la presente invención, se ha descubierto que la terapia por intervalos que emplea dichos moduladores de agregación de Aβ puede ser un enfoque eficaz para el tratamiento del glaucoma y la degeneración macular.

[0016] Además, se ha determinado que el tratamiento por intervalos puede prevenir la recurrencia del glaucoma en pacientes con efectos de tratamiento suficientes o estables mediante la administración de una dosis reducida de un modulador de agregación de Aβ. Un beneficio asociado con dicho tratamiento es una exposición al fármaco significativamente reducida, en particular una exposición crónica reducida mientras el efecto terapéutico sigue siendo suficiente. Además, aumenta la comodidad de la dosificación para los pacientes y, por lo tanto, influye positivamente en el cumplimiento.

[0017] Necesidades adicionales en la técnica que se abordan mediante la invención se harán evidentes a continuación, y aún más necesidades serán evidentes para un experto en la técnica.

[0018] El documento WO 2012/055945 divulga derivados de indol sustituidos de fórmula (I) como se define en el mismo:



(I)

que son potentes inhibidores de la polimerización del péptido β-amiloide y se pueden utilizar para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o trastornos oculares.

[0019] El documento WO 2009/024346 divulga métodos para la prevención y el tratamiento de trastornos oculares, en particular glaucoma, a través del bloqueo de los efectos tóxicos de los derivados de beta-amiloide mediante el uso de un péptido que comprende la secuencia de aminoácidos X-Y o Y-X, donde X es un aminoácido aromático e Y es uno o más aminoácidos adicionales distintos de la glicina, teniendo el péptido al menos 2 residuos de aminoácidos y menos de 15 residuos de aminoácidos.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

[0020] La presente invención proporciona el compuesto (R)-2-amino-N-(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1H-indol-3-il)propanamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o tratamiento del glaucoma o de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en donde dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer período de al menos un día, seguido de un segundo período de al menos una semana en el que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer período de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

[0021] En una forma de realización, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una formulación de dosificación sólida de liberación inmediata.

[0022] En una forma de realización, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una formulación de liberación modificada.

[0023] En una forma de realización, se administra al sujeto al menos un agente farmacéutico adicional para tratar trastornos oculares.

[0024] La presente invención también proporciona el compuesto D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en donde dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer período de al menos un día, seguido de un segundo período de al menos una semana en la que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer periodo de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

[0025] En una forma de realización, la administración del compuesto durante el primer periodo se continúa durante al menos una semana. En una forma de realización, la administración del compuesto durante el primer periodo se continúa durante como máximo un mes.

[0026] En una forma de realización, el segundo periodo es de al menos un mes. En una forma de realización, el segundo periodo es de al menos 2 meses. En una forma de realización, el segundo periodo es como máximo 1 año. En una forma de realización, el segundo periodo es como máximo 6 meses, o como máximo 3 meses. En una forma de realización, el segundo periodo es de tres a seis meses.

[0027] En una forma de realización, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en forma de varias dosis únicas administradas dentro de un periodo de tiempo que consiste en uno o más días.

[0028] En una forma de realización, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en diferentes concentraciones de dosis seleccionadas de titulación ascendente y descendente.

[0029] En una forma de realización, el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en combinación tanto en el primer como en el segundo período con al menos un agente farmacéutico adicional para tratar o prevenir una afección óptica.

[0030] En una forma de realización, el al menos un agente farmacéutico adicional se selecciona de acetazolamida, diclofenamida, carteolol, timolol, metipranolol, betaxolol, pindolol, levobunolol, brimonidina, clonidina, pilocarpina, carbacol, dipivefrina, apraclonidina, brinzolamida, dorzolamida, bimatoprost, travaprost, latanoprost, clortetraciclina, ciprofloxacina, ofloxacina, ácido fusidínico, gentamicina, kanamicina, levofloxacina, lomefloxacina, oxitetraciclina, natamicina, azidamfenicol, cloranfenicol, tobramicina, eritromicina, polimixina-B, acaclovir, trifluridina, betametasona, dexametasona, fluorometolona, hidrocortisona, prednisolona, rimexolona, cromoglicato, azelastina, lodoxamida, emedastina, nedocromilo, levocabastina, olopatadinea, ketotifeno, hipromelosa, carbómero, hialuronato, carmelosa, hipromelosa, povidona, hietelosa, alcohol polivinílico, dexpantenol, tetrizolina, troxerutina, tramazolina, nafazolina, xilometazolina, fenilefrina y antazolina.

[0031] En una forma de realización, el al menos un agente farmacéutico adicional es un medicamento administrado para tratar enfermedades oculares y contiene al menos un agente seleccionado entre fármacos antiglaucomatosos, antibióticos, fármacos antiinflamatorios, esteroides, fármacos antialérgicos y líquido lacrimógeno artificial.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

[0032] La presente invención proporciona el compuesto (R)-2-amino-N-(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1H-indol-3-il)propanamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o tratamiento del glaucoma o de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en donde dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer período de al menos un día, seguido de un segundo período de al menos una semana en el que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer período de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

[0033] La presente invención también proporciona el compuesto D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en donde dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer período de al menos un día, seguido de un segundo período de al menos una semana en el que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer período de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

[0034] Con respecto a la primera administración de dosis terapéuticamente eficaz, dicha administración también puede consistir en varias dosis individuales (normalmente 1-10) administradas en un corto período de tiempo (normalmente 1-7 días). Además, en la situación en la que se administran varias dosis, pueden variar en su concentración de dosificación. Se pretende que dicha variación pueda incluir tanto una titulación ascendente como descendente dependiendo del fármaco y su tolerabilidad.

[0035] En particular con respecto al tratamiento de afecciones ópticas, la vía de la primera dosis puede ser diferente de la vía de la segunda dosis. Por ejemplo, la primera dosis puede administrarse mediante inyección intravítrea y la segunda dosis puede administrarse por vía tópica.

[0036] El segundo período será a menudo un período de tiempo más largo que el primer período. Por ejemplo, el primer período puede ser de un día y el segundo período puede ser de una o más semanas, o de uno o más meses; o el primer período será de una semana y el segundo período será de dos o más semanas, o de uno o más meses. A menudo, el segundo período será menor o igual a un año.

[0037] La presente invención aborda las limitaciones de la terapia convencional para trastornos ópticos y proporciona una terapia farmacéuticamente aceptable para tratar eficazmente la pérdida de la vista en humanos con glaucoma y otros trastornos oculares degenerativos. El mecanismo subyacente es una prevención o reversión de la pérdida de células ganglionares de la retina mediante el bloqueo de los efectos tóxicos de especies neurotóxicas particulares de Aβ.

[0038] Las sustancias representativas descritas para la presente terapia se diseñaron inicialmente para el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la formación de fibrillas amiloides, como la diabetes tipo II y las enfermedades priónicas [Porat Y, Mazor Y, Efrat S, Gazit E. Inhibition of islet amyloid polypeptide fibril formation: A potential role for heteroaromatic interactions. Biochemistry 2004; 43:14454-14462] y enfermedades degenerativas del cerebro, incluida la demencia de Alzheimer [GAZIT, E., solicitud publicada en EE. UU. n.º US2006/0234947 A1]. Más específicamente, Gazit describe que los péptidos de cadena corta, que posiblemente comprenden aminoácidos modificados como el ácido aminoisobutírico, tienen aplicación en la interrupción de la formación de especies tóxicas de Aβ al interactuar con procesos de reconocimiento molecular y autoensamblaje de fibrillas amiloides. [Gazit, 2006] Hemos determinado que estas sustancias muestran efectos terapéuticos en otro sistema orgánico distinto del cerebro, es decir, los ojos. Solicitud Internacional PCT N.º PCT/EP2008/006888. Estas sustancias demuestran un efecto terapéutico en la prevención y el tratamiento de la pérdida de células ganglionares de la retina en modelos animales de glaucoma. En comparación con los agentes conocidos, el rojo Congo y los anticuerpos Aβ, estas sustancias tienen las siguientes ventajas:

- Son moléculas pequeñas que se pueden producir de forma rentable a gran escala.

- Se pueden administrar fácilmente a los pacientes, ya sea por vía oral (por ejemplo, como comprimidos o cápsulas) o localmente (por ejemplo, gotas para los ojos, crema para los ojos, depósito intraocular).

- Son bien tolerados.

- Tienen propiedades farmacocinéticas simples.

[0039] Además, hemos determinado que el mecanismo de acción de estos compuestos se caracteriza por la formación de ensamblajes inocuos del propio compuesto más la proteína Aβ. En las imágenes de microscopía de fuerza atómica, estos ensamblajes aparecen como agregados voluminosos de proteína Aβ. Estos agregados son inertes y no tóxicos para las neuronas. El ensamblaje de estos agregados voluminosos no tóxicos de Aβ ocurre muy rápidamente y, por lo tanto, evita la agregación de monómeros de Aβ en oligómeros patológicos, altamente estructurados, similares a láminas β, lo que finalmente conduce al beneficio terapéutico para los pacientes.

[0040] Hasta la fecha, se ha entendido que se necesitan niveles continuos de moduladores de agregación de Aβ para garantizar que no se puedan formar oligómeros de Aβ tóxicos. Sin embargo, la presente invención se basa en el hallazgo inesperado de que también se pueden lograr efectos beneficiosos del tratamiento sin niveles continuos de moduladores de agregación de Aβ. De hecho, es suficiente administrar una primera dosis eficaz del modulador de agregación de Aβ para iniciar la formación de agregados de Aβ voluminosos no tóxicos. Sorprendentemente, después de la primera iniciación de esa vía, se convierte en la vía principal de procesamiento de Aβ en el organismo y, durante una cierta cantidad de tiempo, sigue siendo la vía principal incluso después de que los moduladores de agregación ya no estén presentes. Esto significa que los moduladores de agregación de Aβ como se describió anteriormente, cuando se aplican de forma interválica, actúan para iniciar un proceso que luego se mantiene por sí solo. Una vez que se han formado los agregados de Aβ voluminosos no tóxicos, actúan como "imanes" biológicos para eliminar automáticamente el Aβ soluble del organismo. En esta situación, el procesamiento de Aβ se redirige hacia la formación rápida de agregados de Aβ voluminosos no tóxicos incluso en ausencia de agentes farmacológicos. Esta desintoxicación continua de niveles elevados de Aβ es la razón subyacente del efecto del tratamiento neuroprotector.

[0041] La administración de estas sustancias encuentra aplicación en el tratamiento de pacientes con varios tipos de trastornos oculares, incluyendo todas las formas de glaucoma, como se mencionó anteriormente, y síndrome de dispersión pigmentaria, síndrome de pseudoexfoliación, glaucoma de ángulo cerrado secundario, glaucoma neovascular, uveítis,

degeneración macular relacionada con la edad, retinoptia diabética, neuropatía óptica degenerativa y otras patologías oculares caracterizadas por una pérdida progresiva de la visión que conduce finalmente a la ceguera conocida por los expertos en la materia. Dichas afecciones tienen en común una disminución progresiva de la vista relacionada con un proceso degenerativo de la retina o el nervio óptico. El tratamiento es posible en todas las etapas de la progresión de la enfermedad, incluidas las etapas muy tempranas como profiláctico. Los efectos clínicos pueden ser dobles: primero, una mejora aguda de la visión en aquellos pacientes que ya sufren de una degeneración glaucomatosa y, segundo, una ralentización o detención del empeoramiento progresivo de la visión. Incluso los pacientes que experimentan ceguera en uno o dos ojos relacionada con el glaucoma pueden recuperar la visión en cierta medida.

[0042] Como se describe en el presente documento, la administración de preparaciones que contienen estas sustancias en ciertos intervalos de tiempo puede conducir a la formación de agregados de Aβ voluminosos no tóxicos nuevos como centros de condensación adicionales para Aβ soluble (dosificación de "refuerzo"). Dependiendo del tipo y la etapa del tratamiento de la enfermedad subyacente, son posibles ciclos de algunos días a varios meses. En comparación con los regímenes de tratamiento continuo conocidos, las terapias de intervalo de la invención tienen las siguientes ventajas:

- Un intervalo de tratamiento con dosificación del fármaco cada dos días hasta varias veces al año solamente es una mejora clara en la comodidad y calidad de vida de los pacientes en comparación con la dosificación requerida con una frecuencia de varias veces al día hasta una vez al día como mínimo. Esto es válido independientemente de la vía de dosificación y del tipo de enfermedad asociada a Aβ.

- El cumplimiento del paciente con la terapia de intervalos también mejora. Cuanto más a menudo los pacientes tienen que administrarse medicamentos, más les molesta el tratamiento y simplemente omiten los momentos de dosificación. Con un mayor cumplimiento, el beneficio del tratamiento mejora.

- El régimen de tratamiento innovador reduce significativamente la exposición general al fármaco. Una exposición reducida significa un riesgo reducido de efectos adversos. Por lo tanto, la tolerabilidad y el perfil de seguridad pueden aumentarse drásticamente sin pérdida de los efectos beneficiosos del tratamiento.

- Se reduce la dosis total de compuesto que se debe aplicar por paciente, lo que reduce drásticamente el costo de producción.

[0043] Los compuestos pueden administrarse en combinación con al menos un agente farmacéutico adicional que se sabe en la técnica que es eficaz en el tratamiento de trastornos oculares. Dicha administración puede incluirse de acuerdo con el régimen terapéutico preferido del al menos un agente farmacéutico adicional, independientemente del régimen de tratamiento de intervalo instantáneo. Estos agentes adicionales pueden seleccionarse de la clase general de fármacos antiglaucomatosos que incluyen los mencionados anteriormente, antibióticos, virostáticos, esteroides, fármacos antialérgicos, lágrimas artificiales y otros fármacos utilizados para el tratamiento ocular local y sistémico. Los fármacos antiglaucomatosos más representativos son la acetazolamida, la diclofenamida, el carteolol, el timolol, el metipranolol, el betaxolol, el pindolol, el levobunolol, la brimonidina, la clonidina, la pilocarpina, el carbacol, la dipivefrina, la apraclonidina, la brinzolamida, la dorzolamida, el bimatoprost, el travaprost y el latanoprost. Los antibióticos más representativos utilizados para las infecciones oculares son la clortetraciclina, la ciprofloxacina, la ofloxacina, el ácido fusidínico, la gentamicina, la kanamicina, la levofloxacina, la lomefloxacina, la oxitetraciclina, la natamicina, el azidamfenicol, el cloranfenicol, la tobramicina, la eritromicina y la polimixina B. Los virostáticos más representativos son el acaclovir y la trifluridina. Los esteroides representativos incluyen betametasona, dexametasona, fluorometolona, hidrocortisona, prednisolona y rimexolona. Los fármacos antialérgicos representativos incluyen cromoglicato, azelastina, lodoxamida, emedastina, nedocromilo, levocabastina, olopatadinea y ketotifeno. Las lágrimas artificiales representativas incluyen hipromelosa, carbómero, hialuronato, carmelosa, hipromelosa, povidona, hietelosa, alcohol polivinílico y dexpantenol. Otros agentes terapéuticos oftálmicos de uso común son tetrizolina, troxerutina, tramazolina, nafazolina, xilometazolina, fenilefrina y antazolina.

[0044] Debido a su alto grado de actividad y su baja toxicidad, que juntos presentan un índice terapéutico más favorable, los compuestos para uso de acuerdo con la presente invención se pueden administrar a un sujeto, por ejemplo, un cuerpo animal vivo (incluido un ser humano), que lo necesite, para el tratamiento, alivio o mejora, paliación o eliminación de una indicación o condición que sea susceptible al mismo, o representativamente de una indicación o condición establecida en otra parte de esta solicitud, opcionalmente de manera concurrente, simultánea o junto con uno o más excipientes, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, especialmente y opcionalmente en forma de una composición farmacéutica de los mismos, ya sea por vía oral, rectal o parenteral (incluidas las vías intravenosa, intraocular y subcutánea) o en algunos casos incluso tópica (incluidas las gotas para los ojos, las cremas para los ojos y las formulaciones de depósito intraoculares), en una dosis eficaz. Los rangos de dosis adecuados incluyen 1-1000 miligramos diarios, alternativamente 10-500 miligramos diarios y opcionalmente 50-500 miligramos diarios, dependiendo como es habitual del modo exacto de administración, la forma en que se administra, la indicación a la que se dirige la administración, el sujeto involucrado y el peso corporal del sujeto involucrado, y la preferencia y experiencia del médico o veterinario a cargo.

[0045] El término "terapéuticamente eficaz" aplicado a dosis o cantidad se refiere a la cantidad de una sustancia o composición farmacéutica que es suficiente para producir una actividad deseada tras su administración a un cuerpo animal

vivo (incluido un cuerpo humano) que lo necesite. El término "tratar" se utiliza en el presente documento para significar aliviar o aliviar al menos un síntoma de una enfermedad en un sujeto. En el sentido de la presente invención, el término "tratar" también denota detener, retrasar el inicio (es decir, el período anterior a la manifestación clínica de una enfermedad) y/o reducir el riesgo de desarrollar o empeorar una enfermedad.

[0046] La frase "farmacéuticamente aceptable", tal como se utiliza en relación con composiciones que contienen compuestos para su uso de acuerdo con la presente invención, se refiere a entidades moleculares y otros ingredientes de composiciones que son fisiológicamente tolerables y que normalmente no producen reacciones adversas cuando se administran a un mamífero (por ejemplo, un ser humano). El término "farmacéuticamente aceptable" también puede significar aprobado por una agencia reguladora del gobierno federal o estatal o incluido en la Farmacopea de los EE. UU. u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en mamíferos, y más particularmente en seres humanos.

[0047] Los compuestos para uso según la presente invención pueden estar en forma de sales farmacéuticamente aceptables. "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a aquellas sales que poseen la eficacia biológica y las propiedades del compuesto original y que no son biológicamente o de otro modo indeseables. La naturaleza de la sal o isómero no es crítica, siempre que no sea tóxico y no interfiera sustancialmente con la actividad farmacológica deseada.

[0048] El término "vehículo" aplicado a composiciones farmacéuticas se refiere a un diluyente, excipiente o vehículo con el que se administra una sustancia activa (tal como D-Trp-Aib). Dichos portadores farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, como agua, soluciones salinas, soluciones acuosas de dextrosa, soluciones acuosas de glicerol y aceites, incluidos los de origen petrolífero, animal, vegetal o sintético, como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Los portadores farmacéuticos adecuados se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de AR Gennaro, 20.ª edición.

[0049] El término "aproximadamente" o "aproximadamente" normalmente significa dentro del 20%, alternativamente dentro del 10%, incluyendo dentro del 5% de un valor o rango dado. Alternativamente, especialmente en sistemas biológicos, el término "aproximadamente" significa dentro de aproximadamente un logaritmo (es decir, un orden de magnitud), incluyendo dentro de un factor de dos de un valor dado.

[0050] Las composiciones farmacéuticas que comprenden una dosis terapéuticamente eficaz de la sustancia activa pueden comprender además un vehículo o excipiente (todos farmacéuticamente aceptables).

[0051] Las composiciones farmacéuticas pueden usarse para el tratamiento de trastornos oculares, incluido el glaucoma, según el esquema de administración de la presente invención. Para este fin, el envase y/o el prospecto y/o la información para el paciente y/o la propia forma de dosificación pueden contener la información correspondiente.

[0052] Según la presente invención, la forma de dosificación de la sustancia activa puede ser una formulación sólida, semisólida o líquida según lo siguiente.

[0053] La sustancia activa para su uso según la presente invención puede administrarse por vía oral, tópica, parenteral o por vía mucosa (por ejemplo, por vía bucal, por inhalación o por vía rectal) en formulaciones de unidad de dosificación que contienen vehículos convencionales no tóxicos farmacéuticamente aceptables. En otra forma de realización para la administración a sujetos pediátricos, la sustancia activa puede formularse como un líquido aromatizado (por ejemplo, aroma de menta). El principio activo se puede administrar por vía oral en forma de cápsula, comprimido o similar, o como una formulación semisólida o líquida (véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 20.ª edición, de AR Gennaro).

[0054] Para la administración oral en forma de comprimido o cápsula, el principio activo se puede combinar con excipientes no tóxicos, farmacéuticamente aceptables, tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol, sorbitol y otros azúcares reductores y no reductores, celulosa microcristalina, sulfato de calcio o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice, ácido estérico, estearilfumarato de sodio, behenato de glicerilo, estearato de calcio y similares); desintegrantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato de almidón sódico); o agentes humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio), agentes colorantes y aromatizantes, gelatina, edulcorantes, gomas naturales y sintéticas (como goma arábiga, tragacanto o alginatos), sales tampón, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares.

[0055] Los comprimidos pueden estar recubiertos con una solución de azúcar concentrada que puede contener, por ejemplo, goma arábiga, gelatina, talco, dióxido de titanio y similares. Alternativamente, los comprimidos pueden estar recubiertos con un polímero que se disuelve en un disolvente orgánico fácilmente volátil o una mezcla de disolventes orgánicos. En formas de realización específicas, la sustancia activa se formula en comprimidos de liberación inmediata (IR) o de liberación modificada (MR). Las formas de dosificación sólidas de liberación inmediata permiten la liberación de la mayor parte o la totalidad del ingrediente activo durante un corto período de tiempo, como 60 minutos o menos, y hacen posible la rápida absorción del fármaco. Las formas de dosificación oral sólidas de liberación modificada permiten la liberación sostenida de la sustancia activa durante un período prolongado de tiempo en un esfuerzo por mantener niveles plasmáticos terapéuticamente efectivos durante intervalos de tiempo igualmente prolongados y/o modificar otras propiedades farmacocinéticas de la sustancia activa.

[0056] Para la formulación de cápsulas de gelatina blanda, las sustancias activas se pueden mezclar con, por ejemplo, un aceite vegetal o polietilenglicol. Las cápsulas de gelatina dura pueden contener gránulos de las sustancias activas utilizando cualquiera de los excipientes mencionados anteriormente para comprimidos, por ejemplo, lactosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones (por ejemplo, almidón de patata, almidón de maíz o amilopectina), derivados de celulosa o gelatina. También se pueden introducir líquidos o semisólidos del fármaco en cápsulas de gelatina dura.

[0057] Las composiciones para uso según la invención también se pueden introducir en microesferas o microcápsulas, por ejemplo, fabricadas a partir de ácido poliglicólico/ácido láctico (PGLA) (véase, por ejemplo, las patentes de EE. UU. n.º 5.814.344; 5.100.669 y 4.849.222; publicaciones PCT n.º WO 95/11010 y WO 93/07861). Se pueden utilizar polímeros biocompatibles para lograr la liberación controlada de una sustancia activa, entre ellos, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y poliglicólico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque anfipáticos o reticulados de hidrogeles.

[0058] También se puede utilizar la formulación de una sustancia activa en forma semisólida o líquida. La sustancia puede constituir entre el 0,1 y el 99 % en peso de la formulación, más específicamente entre el 0,5 y el 20 % en peso para formulaciones destinadas a inyección y entre el 0,2 y el 50 % en peso para formulaciones adecuadas para administración oral.

[0059] En una forma de realización de la invención, la sustancia activa se administra en una formulación de liberación modificada. Las formas de dosificación de liberación modificada proporcionan un medio para mejorar el cumplimiento del paciente y para asegurar una terapia eficaz y segura al reducir la incidencia de reacciones adversas a los medicamentos. En comparación con las formas de dosificación de liberación inmediata, las formas de dosificación de liberación modificada se pueden utilizar para prolongar la acción farmacológica después de la administración y para reducir la variabilidad en la concentración plasmática de un medicamento a lo largo del intervalo de dosificación, eliminando o reduciendo así los picos bruscos.

[0060] Una forma de dosificación de liberación modificada puede comprender un núcleo recubierto con o que contiene una sustancia activa. El núcleo se recubre a continuación con un polímero modificador de la liberación dentro del cual se dispersa la sustancia activa. El polímero modificador de la liberación se desintegra gradualmente, liberando la sustancia activa con el tiempo. De este modo, la capa más externa de la composición ralentiza eficazmente y, por lo tanto, regula la difusión de la sustancia activa a través de la capa de recubrimiento cuando la composición se expone a un entorno acuoso, es decir, el tracto gastrointestinal. La velocidad neta de difusión de la sustancia activa depende principalmente de la capacidad del fluido gástrico para penetrar la capa de recubrimiento o matriz y de la solubilidad de la propia sustancia activa.

[0061] En otra forma de realización de la invención, la sustancia activa se formula en una formulación líquida oral. Las preparaciones líquidas para administración oral pueden adoptar la forma, por ejemplo, de soluciones, jarabes, emulsiones o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para su reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Preparaciones para la administración oral se pueden formular adecuadamente para proporcionar una liberación controlada o diferida del compuesto activo.

[0062] Para la administración oral en forma líquida, la sustancia activa se puede combinar con vehículos inertes no tóxicos y farmacéuticamente aceptables (por ejemplo, etanol, glicerol, agua), agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas), agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga), vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados), conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico), y similares. También se pueden añadir agentes estabilizadores como antioxidantes (BHA, BHT, galato de propilo, ascorbato de sodio, ácido cítrico) para estabilizar las formas de dosificación. Por ejemplo, las soluciones pueden contener de aproximadamente 0,2% a aproximadamente 20% en peso de la sustancia activa, siendo el resto azúcar y una mezcla de etanol, agua, glicerol y propilenglicol. Opcionalmente, dichas formulaciones líquidas pueden contener agentes colorantes, agentes aromatizantes, sacarina y carboximetilcelulosa como agente espesante u otros excipientes.

[0063] En otra forma de realización, se administra una dosis terapéuticamente eficaz de la sustancia activa en una solución oral que contiene un conservante, un edulcorante, un solubilizante y un disolvente. La solución oral puede incluir uno o más tampones, aromatizantes o excipientes adicionales. En otra forma de realización, se añade un aroma de menta u otro a la formulación líquida oral de la sustancia activa.

[0064] Para la administración por inhalación, la sustancia activa puede administrarse convenientemente en forma de una presentación en aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para administrar una dosis medida. Las cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina para uso en un inhalador o insuflador pueden formularse conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

[0065] Las soluciones para aplicaciones parenterales por inyección pueden prepararse en una solución acuosa de una sal farmacéuticamente aceptable soluble en agua de las sustancias activas, preferiblemente en una concentración de aproximadamente 0,5% a aproximadamente 10% en peso. Estas soluciones también pueden contener agentes estabilizadores y/o agentes tampón y pueden proporcionarse convenientemente en varias ampollas de dosificación unitaria.

[0066] Las formulaciones pueden administrarse por vía parenteral, es decir, por vía intraocular, intravenosa (i.v.), intracerebroventricular (i.c.v.), subcutánea (s.c.), intraperitoneal (i.p.), intramuscular (i.m.), subdérmica (s.d.) o intradérmica (i.d.), mediante inyección directa, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis, con un conservante añadido. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para su reconstitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso.

[0067] La dosis terapéuticamente eficaz óptima puede determinarse experimentalmente, teniendo en cuenta el modo exacto de administración, desde el que se administra el fármaco, la indicación a la que se dirige la administración, el sujeto involucrado (por ejemplo, peso corporal, salud, edad, sexo, etc.) y la preferencia y experiencia del médico o veterinario a cargo.

[0068] Las unidades de dosificación para aplicación rectal pueden ser soluciones o suspensiones o pueden prepararse en forma de supositorios o enemas de retención que comprenden las sustancias de la invención en una mezcla con una base grasa neutra, o cápsulas rectales de gelatina que comprenden las sustancias activas en una mezcla con aceite vegetal o aceite de parafina.

[0069] La toxicidad y eficacia terapéutica de las composiciones de la invención se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en animales experimentales, por ejemplo, determinando la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos terapéuticos y tóxicos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación DL_{50}/DE_{50}. Se prefieren las composiciones que presentan índices terapéuticos altos.

[0070] Las dosis efectivas adecuadas de la sustancia activa de la invención en el tratamiento terapéutico de seres humanos son de aproximadamente 0,01-10 mg/kg de peso corporal en administración por vía oral y de 0,001-10 mg/kg de peso corporal en administración parenteral.

[0071] La duración del tratamiento puede ser a corto plazo, por ejemplo, varias semanas (por ejemplo, 8-14 semanas), o a largo plazo hasta que el médico tratante considere que ya no es necesaria una administración adicional.

[0072] La sustancia activa de la presente invención puede administrarse como monoterapia o en combinación con otra sustancia prescrita para el tratamiento de una afección óptica asociada con toxicidad por β-amiloide (Aβ) o, más específicamente, glaucoma.

[0073] El término "combinación" aplicado a sustancias activas se utiliza en el presente documento para definir una única composición farmacéutica (formulación) que comprende dos sustancias activas (por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende una sustancia activa como se describe en el presente documento y otra sustancia prescrita para el tratamiento de una afección óptica asociada con toxicidad por β-amiloide (Aβ) o, más específicamente, glaucoma) o dos composiciones farmacéuticas separadas, cada una de las cuales comprende una sustancia activa (por ejemplo, una composición farmacéutica que comprende una sustancia activa de la presente invención u otra sustancia prescrita para el tratamiento de una afección óptica asociada con toxicidad por β-amiloide (Aβ) o, más específicamente, glaucoma), que se administrarán conjuntamente.

[0074] En el sentido de la presente invención, el término "administración conjunta" se utiliza para referirse a la administración de una sustancia activa como se describe en este documento y una segunda sustancia activa (por ejemplo, otra sustancia prescrita para el tratamiento de una afección óptica asociada con toxicidad por β-amiloide (Aβ) o, más específicamente, glaucoma) simultáneamente en una composición, o simultáneamente en diferentes composiciones, o secuencialmente. Sin embargo, para que la administración secuencial se considere "conjunta", una sustancia activa como la descrita en el presente documento y la segunda sustancia activa deben administrarse separadas por un intervalo de tiempo que aún permita el efecto beneficioso resultante para tratar una afección óptica asociada con toxicidad por β-amiloide (Aβ) en un mamífero. La invención abarca dicha estrategia de administración combinada en la que los moduladores de agregación de Aβ se administran en dosis terapéuticamente eficaces, dosis terapéuticamente subeficaces o no se administran en absoluto durante días específicos de dicha terapia "combinada".

[0075] Las sustancias experimentales de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del glaucoma y también de la disfunción de RGC relacionada con la edad, ya que también se ha sugerido el papel de Aβ para esta última afección. Además, se pueden esperar efectos terapéuticos sinérgicos plausibles de un tratamiento combinado con agentes reductores de la presión intraocular que se utilizan actualmente en el glaucoma, así como terapias futuras propuestas, como antioxidantes, bloqueadores de los canales de calcio, inhibidores de la NO sintasa, neurotrofinas y antiapoptóticos.

[0076] La presente invención proporciona aplicaciones y usos nuevos, valiosos y sorprendentes para sustancias en los métodos de la presente invención, así como composiciones farmacéuticas novedosas de las mismas, que poseen al menos una de las características y/o ventajas descritas en este documento.

[0077] Las composiciones farmacéuticas representativas preparadas mezclando la sustancia activa con un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado, incluyen comprimidos, cápsulas, soluciones para inyección, formulaciones orales líquidas, formulaciones en aerosol, formulaciones de TDS y formulaciones de nanopartículas, para producir así medicamentos para uso oral, inyectable o tópico, también de acuerdo con lo anterior.

FARMACOLOGÍA - RESUMEN

[0078] Las sustancias activas para uso según la presente invención, y las composiciones farmacéuticas de las mismas, se caracterizan por propiedades únicas, ventajosas e impredecibles, que hacen que el "objeto de estudio en su conjunto", como se reivindica en el presente documento, no sea obvio. Las composiciones farmacéuticas han mostrado, en procedimientos de prueba fiables aceptados estándar, las siguientes propiedades y características valiosas:

EJEMPLO FARMACOLÓGICO 1

MÉTODOS

[0079] En el modelo experimental de glaucoma, hay una mayor expresión de la proteína precursora amiloide (APP) y una probable apoptosis relacionada en las células ganglionares de la retina (RGC) [McKinnon, SJ; Lehman, DM; Kerrigan-Baumrind, LA; Merges, CA; Pease, ME; Kerrigan, DF; Ransom, NL; Tahzib, NG; Reitsamer, HA; Levkovitch-Verbin, H.; Quigley, HA, y Zack, DJ Caspase activation and amyloid precursor protein cleavage in rat ocular hypertension. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2002 Abr; 43(4):1077-87]. Además, la inyección de Aβ1-42 induce la apoptosis en las CGR. La interferencia con la vía APP-Aβ, como la aplicación ocular de anticuerpos, la inhibición de la actividad de la β-secretasa o la inhibición de la oligomerización, previene, al menos temporalmente, la apoptosis de las CGR en el glaucoma resultante del aumento de la presión ocular (Guo, et al., 2007).

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

[0080] En el modelo de rata macho Dark Aguti, el glaucoma se produce mediante la inyección de solución salina hipertónica en las venas epiesclerales de un ojo para inducir un aumento de la presión ocular (hipertensión ocular crónica -OHT), mientras que el ojo opuesto sirve como control [Morrison JC, Moore CG, Deppmeier LM, Gold BG, Meshul CK, Johnson EC A rat model of chronic pressure-induced optic nerve damage. Exp Eye Res. 1997; 64(1): 85-96] En los grupos de tratamiento (N=4-8 por grupo), se inyectan intravítreamente varias dosis de sustancias de la presente invención (en un volumen de 5 mL) en el momento de la inducción del glaucoma y en algunos grupos la administración continúa durante los 7 días siguientes para ver si dicho tratamiento prolongado da como resultado una mayor eficacia. El grado de apoptosis de las CGR a las 3 y 6 semanas después de la inducción de la hipertensión ocular crónica (HTO) se evalúa en cada animal mediante oftalmoscopia láser de barrido confocal dinámico y anexina V marcada con fluorescencia. Los animales se sacrifican después de 3 y 6 semanas y sus ojos se enuclean y se fijan en paraformaldehído al 4 % durante la noche. Después, se separan las retinas para evaluar los cambios relacionados con la apoptosis, por ejemplo: como se visualizó con el kit FITC Annexin V (BD Biosciences, Franklin Lakes, EE. UU.) [Cordeiro, MF, Guo, L., Luong, V., Harding, G., Wang, W., Jones, HE, Moss, SE, Sillito, AM y Fitzke, FW 2004 Real-time imaging of single nerve cell apoptosis in retinal neurodegeneration. Proc Natl Acad Sci EE. UU., 101, 13352-6; Kietselaer, BL, Hofstra, L., Dumont, EA, Reutelingsperger, CP y Heidendal, GA 2003 The role of labeled Annexin A5 in imaging of programmed cell death. From animal to clinical imaging. QJ Nucl Med, 47, 349-61], o TUNEL (etiquetado de extremos con muescas de dUTP) [Roche, In situ cell death detection kit, fluorescein labelled] [Szydlowska K., Kaminska B., Baude A., Parsons CG, Danysz W. 2007 Neuroprotective activity of selective mGlu1 and mGlu5 antagonists in vitro and in vivo. Eur. J. Pharmacol. 554, 18-29.]. En animales tratados con sustancias experimentales de la presente invención, hay una disminución de la apoptosis de las CGR al menos en un punto temporal evaluado.

[0081] En un experimento adicional, las ratas son tratadas sistémicamente (s.c.) y el experimento se repite como se indicó anteriormente. El objetivo de este estudio es verificar si la administración sistémica produce concentraciones suficientemente altas en el ojo. Por lo tanto, además, se analizan las concentraciones de sustancias de la presente invención en el espacio vítreo del ojo. En animales tratados sistémicamente con sustancias experimentales, hay una disminución en la apoptosis de RGC al menos en un punto de tiempo evaluado y se detectan concentraciones significativas de las sustancias experimentales en el espacio vítreo del ojo.

[0082] El experimento se repite como se describió anteriormente, excepto que la sustancia se aplica (s.c.) una vez 24 horas antes de la inducción del glaucoma. Los estudios muestran que en el punto en el tiempo en el que se induce el glaucoma, la concentración de la sustancia aplicada en el ojo es insignificante. Sorprendentemente, dicho tratamiento es seguido por una disminución en la pérdida de RGC frente al control cuando se evalúa en un cierto punto en el tiempo, por ejemplo después de 3 semanas.

Experimento in vitro 1

[0083] Además, los efectos de las sustancias experimentales sobre la toxicidad de las células RGC se verifican in *vitro.* Aβ se preagrega durante 1-7 días con una sustancia experimental (300, 100, 30, 10, 3, 1, 0,3 mM) o vehículo y luego parte de esta solución se agrega al cultivo primario de RGC durante 48 horas para producir una concentración final de Aβ = 1 mM. Durante esta incubación, las células permanecen en una incubadora a 37 ºC, 95% de humedad y 5% de CO2. Posteriormente, se verifica la apoptosis/necrosis utilizando el kit FITC Annexin V (BD Biosciences, Franklin Lakes, EE. UU.) y opcionalmente con yoduro de propidio [Szydlowska et al., 2007].

Experimento in vitro 2

[0084] Alternativamente, los efectos de las sustancias experimentales sobre la toxicidad para las células ganglionares de la retina (RGC) se pueden verificar *in vitro* utilizando el potencial de membrana de RGC registrado mediante la técnica de pinza de parche perforada como se describe a continuación. Esta técnica permite controlar el potencial de membrana celular durante un tiempo prolongado, ya que la diálisis del citoplasma se reduce por las perforaciones en la membrana formadas por el antibiótico. De este modo, la membrana es permeable solo a pequeños cationes.

[0085] Aβ se prepara a partir de Aβ1-42 liofilizado de Bachem (cod. H-1368 número de lote 1030255) que se disuelve en HFIP (Sigma Aldrich) a una concentración de 1 mg/ml. En los experimentos, la concentración de Aβ se establece normalmente en 50 nM. Aβ se utiliza después de 90 minutos de incubación a 36 ºC y, en cualquier caso, dentro de las 2 horas desde el momento en que se diluyó en la solución de baño fisiológico.

[0086] Las RGC se aíslan de retinas de ratones neonatos (P5-P6). El procedimiento estandarizado ofrecido por el kit Miltenyi Biotec se utiliza para aislar las RGC. Al cabo de cuatro días de cultivo, las CGR se identifican por la presencia de una protuberancia larga que representa el axón.

[0087] Antes del registro de fijación de parche, el medio de cultivo que baña las células se sustituye por una solución de registro externa (140 mM de NaCl, 2,5 KCl, 1,8 CaCl2, 0,5 MgCl2, 10 glucosa, 10 Hepes, pH 7,4). Los experimentos de fijación de parche se realizan utilizando el antibiótico gramicidina (Sigma Aldrich) diluido en una solución intracelular (140 mM de KCl, 10 NaCl, 2 MgCl2, 0,1 CaCl2, 10 glucosa, 10 Hepes, pH 6,9) a una concentración final de 5 µg/ml. Esta solución se utiliza para llenar la pipeta de parche para abrir poros en la membrana durante un "procedimiento de fijación de parche perforado". A dicha concentración de gramicidina, se obtiene acceso eléctrico a la célula después de aproximadamente 5-10 minutos.

[0088] En primer lugar, se mide el potencial de reposo de las RGC en condiciones de control. El aparato de perfusión de tubo en U hecho a medida se dirige hacia la célula en observación y se logran cambios completos en la solución que perfunde la célula ganglionar de la retina en menos de 1 segundo.

[0089] La acción de los siguientes compuestos (por ejemplo, ácido (E)-(R)-5-amino-6-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico, (R)-2-aminoN-1(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1-H-indol-3-il)propanamida y ácido (R)-3-((2-amino-3-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico, D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30)) sobre las células ganglionares de la retina estimuladas con beta amiloide se evalúa como se describió anteriormente. Un ejemplo de los efectos protectores de D-Trp-Aib se ilustra en la Figura 1. Aβ1-42 50 nM (preincubado durante 90 minutos a 36 ºC) células ganglionares de retina aislada despolarizada (RGC): las flechas muestran el momento de la aplicación de Aβ1-42 - Figura 1A. Después de un tiempo variable, entre 2 y 10 minutos, el potencial de reposo de la célula se mueve hacia potenciales más positivos. En la Figura 1B está claro que el efecto despolarizante de Aβ1-42 se evita mediante la co-incubación con 1 mM de DTrp-Aib (90 minutos a 36°C). La Figura 1C ilustra el potencial de reposo promedio de las RGC en condiciones de control, en 50 nM de Aβ y en dos concentraciones diferentes de D-Trp-Aib. La diferencia entre las condiciones de control (-59,4 ± 2,8 mV) y la estimulación con Aβ (35,6 ± 1,8 mV) es altamente significativa (n=5, p=0,01). No se encontraron diferencias significativas entre la aplicación de Aβ y Aβ más 0,5 mM de D-Trp-Aib (-39,3 ± 1,8 mV). Sin embargo, el potencial de membrana en reposo promedio de las CGR estimuladas con Aβ 50 nM más 1 mM de D-Trp-Aib (-48,9 ± 2,4 mV) es estadísticamente diferente del control (n = 5, p = 0,05), de la estimulación con Aβ solo (n = 5, p = 0,05) y de Aβ más 0,5 mM de D-Trp-Aib (n = 5, p = 0,05). Estos resultados demuestran que D-Trp-Aib protege contra la toxicidad de Aβ1-42.

[0090] Estos datos sugieren firmemente que las sustancias experimentales de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento del glaucoma y también de la disfunción de las CGR relacionada con la edad, ya que se ha sugerido también el papel de Aβ para esta última afección [Guo, et al., 2007]. Además, se pueden esperar efectos terapéuticos sinérgicos plausibles de un tratamiento combinado con agentes reductores de la presión intraocular que se utilizan actualmente en el glaucoma, así como terapias futuras propuestas, como los antioxidantes, bloqueadores de los canales de calcio, inhibidores de la NO sintasa, neurotrofinas y agentes antiapoptóticos [Hartwick A. T. 2001. Beyond intraocular pressure: neuroprotective strategies for future glaucoma therapy. Optom Vis Sci 78, 85-94.].

EJEMPLO FARMACOLÓGICO 2

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

Método de producción de agregados voluminosos sintéticos

[0091] Aβ1-42 (número de pedido 62-0-80, lote Y11042T1, American Peptide Company, Sunnyvale, CA 94086, EE. UU.) se suspende en HFIP al 100 % (Sigma Aldrich) hasta aproximadamente 1 mg/ml (2 mg disueltos en 2 mL de HFIP) y se agita a 37 ºC durante 1,5 horas en viales Eppendorf herméticamente sellados. Se deja enfriar a temperatura ambiente y luego la solución se divide en alícuotas y el HFIP se elimina por evaporación utilizando un Speedvac durante aproximadamente 30 minutos. Cuando está seco, el Aβ1-42 se almacena a -20 ºC. El Aβ1-42 se disuelve en DMSO anhidro (Sigma Aldrich) a una concentración de 100 veces la requerida en PBS (es decir, 10 mM para 100 µM) con la ayuda de un baño de agua ultrasónico con/sin D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) (es decir, para una proporción de 10:1 con D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) 100 mM para 10 mM Aβ1-42). Esta solución luego se diluye inmediatamente en PBS a una concentración final de 100 mM Aβ en 1% DMSO. Estas soluciones se dejan agregar a temperatura ambiente durante varios tiempos (por ejemplo, 1 hora, 1 día, 1 semana) antes de ser utilizadas.

[0092] Después de la agregación en PBS, las soluciones se diluyen en serie en PBS 10 veces y luego se "recargan" con Aβ1-42 para eliminar D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) pero mantener la concentración total de Aβ1-42. Este paso de transferencia de semillas de Aβ1-42 se repite al menos 4 veces, de modo que la concentración residual final de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) sea 10 000 veces menor que la concentración inicial (por ejemplo, 1 µM reducido a 0,1 nM).

[0093] La solución resultante contiene principalmente especies/semillas oligoméricas tóxicas en el caso de Aβ1-42 solo, pero también semillas de Aβ1-42 no tóxicas/desintoxicantes en el caso de soluciones tratadas con D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30). Los agregados voluminosos de Aβ no tóxicos, limpios y superficialmente libres de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), se utilizan como agente activo para experimentos *in vitro* o con animales, ya sea tal cual o después de una dilución adicional.

[0094] El procedimiento es igualmente aplicable para obtener agregados voluminosos utilizando cualquiera de los otros moduladores de agregación de Aβ descritos en este documento, por ejemplo utilizando ácido (E)-(R)-5-amino-6-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico, (R)-2-amino-N-1(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1-H-indol-3-il)propanamida y ácido (R)-3-((2-amino-3-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico.

Método para producir agregados voluminosos a partir de células productoras de medio acondicionado

[0095] El medio acondicionado de células productoras de Aβ se incuba con concentraciones apropiadas de varios moduladores de agregación de Aβ, es decir, D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), ácido (E)-(R)-5-amino-6-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico, (R)-2-amino-N-1(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1-H-indol-3-il)propanamida y ácido (R)-3-((2-amino-3-(1H-indol-3-il)-2,2-dimetil-hex-3-enoico, y otros. Después de varias horas de incubación, la proteína Aβ y el modulador de agregación de Aβ respectivo forman agregados de Aβ voluminosos no tóxicos como se describió anteriormente. Estos agregados de Aβ voluminosos no tóxicos se separan mediante ultracentrifugación diferencial/lavado (u otras técnicas adecuadas como dilución en serie) hasta que se elimina todo el D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) (u otro modulador de agregación de Aβ) se enjuaga. Los agregados de Aβ voluminosos no tóxicos y libres de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) se utilizan como agente activo para experimentos *in vitro* o animales, ya sea como están o después de una dilución adicional.

Método para confirmar los efectos protectores de los agregados de Aβ voluminosos no tóxicos y libres de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30)

[0096] Se obtienen cortes transversales de hipocampo (350 µM de espesor) de ratones adultos (2 meses) que están anestesiados con éter y decapitados. El cerebro se extrae rápidamente y los cortes se preparan en solución de Ringer helada utilizando un vibrocortador. Todos los cortes se colocan en una cámara de retención durante al menos 60 min y luego se transfieren a una cámara de superfusión para registros extracelulares o de células completas. El caudal de la solución a través de la cámara es de 1,5 mL/min. La composición de la solución es 124 mM de NaCl, 3 mM de KCl, 26 mM de NaHCO3, 2 mM de CaCl2, 1 mM de MgSO4, 10 mM de D-glucosa y 1,25 mM de NaH2PO4, burbujeada con una mezcla de 95% de O_2-5% de CO2, y tiene un pH final de 7,3. Todos los experimentos se realizan a temperatura ambiente.

[0097] Los registros extracelulares de los potenciales postsinápticos excitatorios de campo (fEPSP) se obtienen de la región dendrítica de la región CA1 del hipocampo utilizando micropipetas de vidrio (1-2 MW) llenas de solución de superfusión. Los registros se amplifican, se filtran (3 kHz) y se digitalizan (9 kHz). Los fEPSP amplificados y los NMDA-EPSC se filtran (3 kHz), se digitalizan (15 kHz) y se miden y se representan gráficamente en línea, utilizando el software "PLP-program". Las mediciones de la pendiente de fEPSP se toman entre el 20 y el 80 % de la amplitud máxima. Las pendientes de fEPSP se normalizan con respecto al período de control de 30 minutos antes de la estimulación tetánica.

[0098] Para la inducción de potenciación a largo plazo (PLP), se utilizan pulsos de acondicionamiento de estimulación de alta frecuencia (100 Hz; 4-5 V) aplicado a la vía colateral-comisural de Schaffer. Se realizan registros de línea base constantes durante al menos 30 minutos antes de la aplicación de estímulos tetánicos. Aβ1-42 se prepara como se describe en "Method of producing synthetic bulky aggregates" con o sin D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) y se agrega a la solución de baño (dando una concentración final de Aβ1-42 de 50-100 nM), 90 min antes de la inducción de PLP.

[0099] Como se ilustra en la Figura 2. La estimulación tetánica da como resultado una PLP fuerte en condiciones de control. La incubación previa con Aβ1-42 50 nM agregado en condiciones de dilución en serie sin D-Trp-Aib causa una fuerte inhibición de PLP. El agregado de Aβ1-42 50 nM después de la "siembra" con condiciones de dilución en serie de D-Trp-Aib (concentración inicial de D-TrpAib = 1 mM, concentración final de D-Trp-Aib = 0,1 nM) produce una inhibición significativamente menor de PLP (prueba t de Student bilateral no pareada, p = 0,0184).

[0100] Estos resultados demuestran el efecto tóxico de Aβ1-42 sobre fEPSP y la protección correspondiente resultante de la administración de los agregados voluminosos sintéticos.

Tratamiento con agregados voluminosos

[0101] En el modelo de glaucoma de rata Dark Aguti macho descrito anteriormente, los agregados voluminosos no tóxicos descritos anteriormente, como los agregados voluminosos de Aβ no tóxicos libres de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), se pueden aplicar mediante inyección intravítrea para proporcionar efectos beneficiosos duraderos en la disminución de la apoptosis de RGC.

EJEMPLO FARMACOLÓGICO 3

[0102] Utilizando el modelo de rata de glaucoma indicado en el Ejemplo farmacológico 1 (modelo Morrison), se induce el glaucoma mediante la aplicación de solución salina hipertónica en la vena episcleral del ojo. Esto conduce a un aumento duradero de la presión intraocular y, como consecuencia, a la neurodegeneración asociada a Aβ de las células ganglionares de la retina. Los agregados voluminosos de Aβ no tóxicos, limpios y superficialmente libres de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) (producidos como se describió anteriormente) se inyectan intraocularmente en los ojos de la rata y, por lo tanto, reducen significativamente la apoptosis inducida por Aβ de las células ganglionares de la retina.

[0103] Otros experimentos con animales demuestran que la aplicación intermitente de D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) u otros moduladores de agregación de Aβ en intervalos de tiempo de 3 días hasta 4 semanas (e incluso más) protege contra la toxicidad de Aβ con la misma eficacia que el tratamiento continuo oneroso con varias aplicaciones por día.

EJEMPLO FARMACOLÓGICO 4

[0104] En otro estudio con animales con ratas glaucomatosas (procedimiento como se describió anteriormente, modelo de Morrison) se aplica D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) 3 días antes de la inducción del glaucoma (una sola inyección s.c.). Aunque D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) (vida media de 1-2 horas en la rata) ya no es detectable en el animal en el momento de la inducción del glaucoma, proporciona un fuerte efecto neuroprotector para las células ganglionares de la retina. La explicación de este hallazgo inesperado es que el pretratamiento con D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) conduce a la formación de agregados voluminosos de Aβ no tóxicos (posiblemente microagregados voluminosos de Aβ no tóxicos) que consisten en D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30) y Aβ fisiológicamente predominante en concentraciones bajas. Estos agregados voluminosos de Aβ no tóxicos funcionan aislando el Aβ tóxico después de la inducción de glaucoma incluso si el Aβ se libera en concentraciones más altas.

[0105] La función moduladora de Aβ es consistente en diferentes vías de aplicación, incluidas las formulaciones oral, subcutánea, intraperitoneal, intravenosa, intramuscular (incluida la de depósito), subconjuntival, tópica (por ejemplo, gotas para los ojos, geles, implantes, lentes de contacto modificadas, etc.) y otras formulaciones farmacéuticas.

[0106] Basándose en el resultado positivo de los modelos prototípicos descritos anteriormente para enfermedades neurodegenerativas asociadas a Aβ, se puede concluir que el mecanismo neuroprotector innovador es eficaz también en otras enfermedades asociadas a Aβ, en particular en la degeneración macular del ojo (AMD).

CONCLUSIONES

[0107] El alto orden de actividad de los métodos descritos para utilizar las sustancias activas de la presente invención y composiciones de las mismas, como se evidencia por las pruebas informadas, es indicativo de utilidad. Sin embargo, la evaluación clínica en seres humanos no se ha completado. Se entenderá claramente que la distribución y comercialización de cualquier sustancia o composición que caiga dentro del alcance de la presente invención para su uso en seres humanos tendrá que basarse, por supuesto, en la aprobación previa de las agencias gubernamentales, como la Administración Federal de Alimentos y Medicamentos de los EE. UU., que son responsables y están autorizadas para emitir juicios sobre tales cuestiones.

[0108] Las composiciones farmacéuticas representativas preparadas mediante la mezcla opcional de la sustancia activa con un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado, incluyen comprimidos, cápsulas, soluciones para inyección, formulaciones orales líquidas, formulaciones en aerosol, formulaciones TDS y formulaciones de nanopartículas, para producir así medicamentos para uso oral, inyectable o tópico, también de acuerdo con lo anterior.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto (R)-2-amino-N-(1-amino-2-metil-1-oxopropan-2-il)-3-(1H-indol-3-il)propanamida, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o tratamiento del glaucoma o de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer período de al menos un día, seguido de un segundo período de al menos una semana en el que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer período de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

2. El compuesto D-Trp-Aib (SEQ ID NO. 30), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la degeneración macular relacionada con la edad en un sujeto, en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente durante un primer periodo de al menos un día, seguido de un segundo periodo de al menos una semana en el que no se administra el compuesto, seguido de la repetición de dicho primer periodo de al menos un día en el que dicho compuesto se administra al sujeto diariamente.

3. El compuesto para su uso según la reivindicación 2, en el que la administración del compuesto durante el primer periodo se continúa durante al menos una semana.

4. El compuesto para su uso según la reivindicación 2, en el que la administración del compuesto durante el primer periodo se continúa durante como máximo un mes.

5. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el segundo periodo es de al menos un mes.

6. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el segundo periodo es de al menos 2 meses.

7. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el segundo periodo es como máximo 1 año.

8. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el segundo periodo es como máximo 6 meses, o como máximo 3 meses.

9. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en el que el segundo periodo es de entre tres y seis meses.

10. El compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2-9, en el que el compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, se administra en forma de varias dosis únicas administradas en un periodo de tiempo que consiste en uno o más días.

11. Compuesto para uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 9, en el que el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en diferentes concentraciones de dosis seleccionadas entre titulación ascendente y descendente.

12. Compuesto para uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una formulación de dosificación sólida de liberación inmediata.

13. Compuesto para uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en una formulación de liberación modificada.

14. Compuesto para uso según la reivindicación 1, en el que se administra al sujeto al menos un agente farmacéutico adicional para tratar trastornos oculares.

15. Compuesto para uso según la reivindicación 2, en el que el compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administra en combinación tanto en el primer como en el segundo periodo con al menos un agente farmacéutico adicional para tratar o prevenir una afección óptica.

16. Compuesto para uso según la reivindicación 14 o 15, en el que el al menos un agente farmacéutico adicional se selecciona de acetazolamida, diclofenamida, carteolol, timolol, metipranolol, betaxolol, pindolol, levobunolol, brimonidina, clonidina, pilocarpina, carbacol, dipivefrina, apraclonidina, brinzolamida, dorzolamida, bimatoprost, travaprost, latanoprost, clortetraciclina, ciprofloxacina, ofloxacina, ácido fusidínico, gentamicina, kanamicina, levofloxacina, lomefloxacina, oxitetraciclina, natamicina, azidamfenicol, cloranfenicol, tobramicina, eritromicina, polimixina-B, acaclovir, trifluridina, betametasona, dexametasona, fluorometolona, hidrocortisona, prednisolona, rimexolona, cromoglicato, azelastina, lodoxamida, emedastina, nedocromilo, levocabastina, olopatadinea, ketotifeno, hipromelosa, carbómero, hialuronato, carmelosa, hipromelosa, povidona, hietelosa, alcohol polivinílico, dexpantenol, tetrizolina, troxerutina, tramazolina, nafazolina, xilometazolina, fenilefrina y antazolina.

FIGURA 1

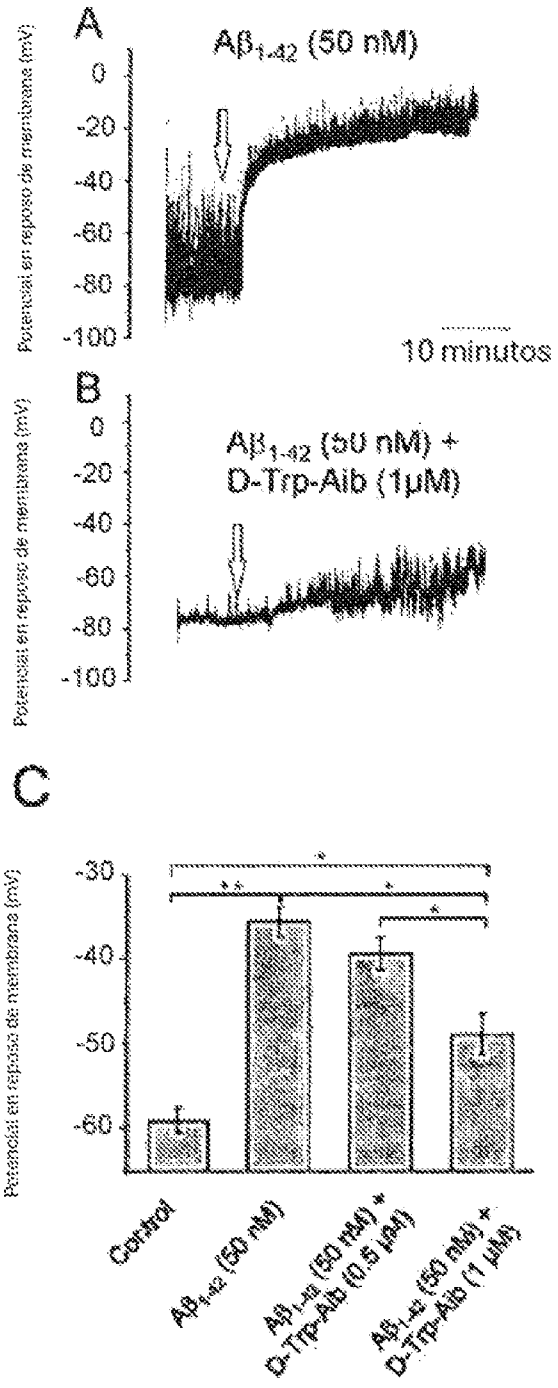
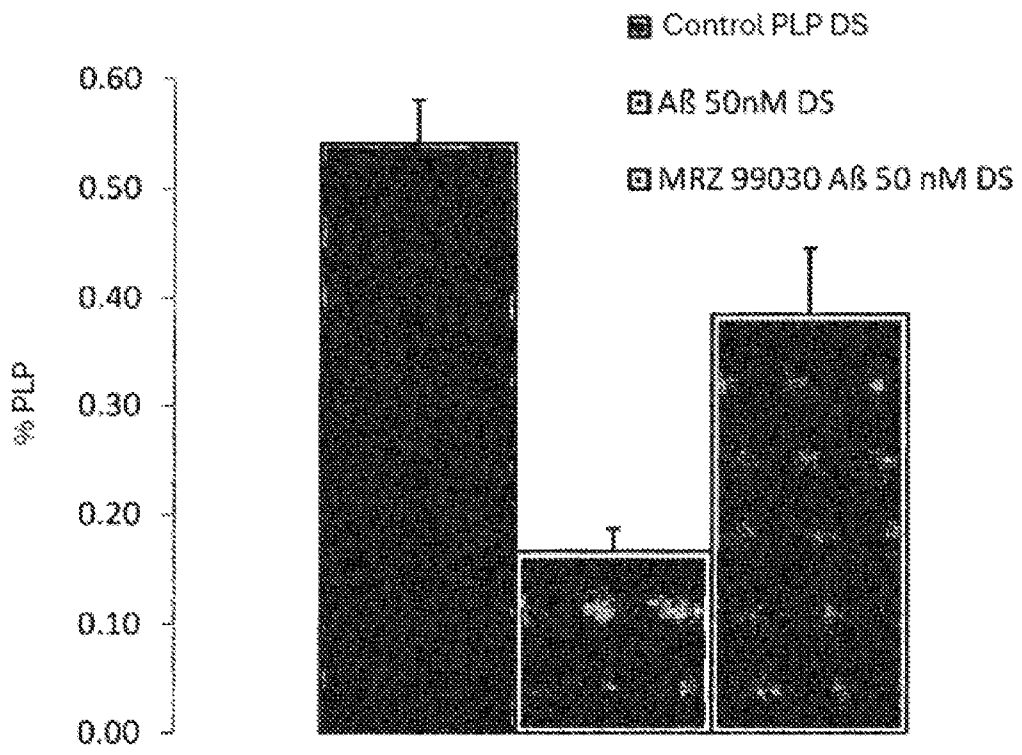

A
Aβ1-42 (50 nM)
Potencial en reposo de membrana (mV)
0
-20
-40
-60
-80
-100
10 minutos
B
Aβ1-42 (50 nM) +
D-Trp-Aib (1μM)
C
-30
-40
-50
-60
Control
Aβ1-42 (50 nM)
Aβ1-42 (50 nM) + D-Trp-Aib (0,5 μM)
Aβ1-42 (50 nM) + D-Trp-Aib (1 μM)

FIGURA 2


Control PLP DS
Aß 50nM DS
MRZ 99030 Aß 50 nM DS
% PLP
0.60
0.50
0.40
0.30
0.20
0.10
0.00