

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 984 684**

51 Int. Cl.:

A61K 31/436 (2006.01)
A61K 31/65 (2006.01)
A61P 31/04 (2006.01)
A61P 37/06 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.06.2020 PCT/US2020/037787**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **17.12.2020 WO20252475**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.06.2020 E 20823121 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.06.2024 EP 3982956**

54 Título: **Composición farmacéutica triple para infección proteica**

30 Prioridad:

14.06.2019 US 201962861855 P
08.07.2019 US 201916504723
09.09.2019 US 201916565242

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2024

73 Titular/es:

ATIBA, JOSHUA O. (100.0%)
C/o SoCal IP Law Group LLP 310 N. Westlake
Blvd., Suite 120
Westlake Village, California 91362, US

72 Inventor/es:

ATIBA, JOSHUA O.

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 984 684 T3

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

DESCRIPCIÓN

Composición farmacéutica triple para infección proteica

5 **Antecedentes****Campo**

Esta divulgación se refiere a la terapia de la enfermedad de Alzheimer (EA).

10

Descripción de la técnica relacionada

Comúnmente se cree que la EA es una enfermedad cerebral localizada. La EA con enfermedad neurológica es la tercera causa principal de muerte en Estados Unidos después de enfermedades cardiovasculares y cáncer. La EA normalmente sigue una secuencia compuesta por neuroinflamación, proteopatía amiloide y tau, enfermedad de almacenamiento acumulativa, neurotoxicidad y daño neurológico, pérdida de función (es decir, actividades de la vida diaria (AVD) y habilidades cognitivas), y finalmente muerte. Las muertes por EA se deben a la futilidad y pérdida de la voluntad de vivir en estos pacientes que han sido despersonalizados y han perdido su apetito por alimentos y líquidos, junto con el deterioro senil extremo que conduce a muerte prematura, normalmente en el plazo de cinco a diez años posteriores al diagnóstico de la EA.

15

20

Existen cuatro teorías predominantes principales sobre la causa de la EA: (a) una hipótesis colinérgica, (b) una hipótesis de deposición de proteína amiloide, (c) una hipótesis de deposición de proteína tau, y (d) una hipótesis neurovascular. Actualmente no existe un tratamiento eficaz que puede modificar la progresión de la enfermedad de Alzheimer, o prevenir su aparición. Las terapias actualmente disponibles sólo actúan sobre la mejora sintomática, mientras que el desarrollo de terapias que pueden bloquear o retrasar la progresión de la enfermedad sigue siendo una necesidad insatisfecha desafiante.

25

Según la hipótesis colinérgica, la degeneración de neuronas colinérgicas en el prosencéfalo basal y la pérdida asociada de neurotransmisión colinérgica en la corteza cerebral y otras áreas contribuyeron significativamente al deterioro de la función cognitiva observada en pacientes con enfermedad de Alzheimer.

30

Bajo la hipótesis de deposición de proteína amiloide, se cree que la formación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares contribuye a la degradación de las neuronas (células nerviosas) en el cerebro y los síntomas posteriores de la enfermedad de Alzheimer. Las proteínas amiloides son un gran grupo de proteínas de las cuales se han descrito sesenta tipos diferentes. Se han asociado treinta y seis proteínas amiloides con la enfermedad humana. La proteína amiloide fue observada y descrita por primera vez por Rudolf Virchow, quien pensó que era una sustancia amilácea, por tanto, el nombre de amiloide relacionado con almidón o amilina en latín. A continuación se pensó que era una sustancia grasa, pero más tarde se descubrió que era una sustancia proteica. Desde la introducción de la elegante química de proteínas, espectrometría de masas y cristalografía de rayos X, las proteínas amiloides se han caracterizado e identificado mejor en diversas enfermedades y afecciones humanas.

35

40

Anteriormente la enfermedad de la proteína amiloide se clasificó como amiloidosis primaria o secundaria. La enfermedad primaria se reconocía como enfermedad familiar con la síntesis y deposición de la proteína en órganos tales como corazón, riñón, piel, lengua, tejido graso y recto. En la enfermedad secundaria, la deposición de proteína amiloide se reconocía como secundaria a una afección supurativa crónica tal como tuberculosis u otro absceso bacteriano incontrolado que es común en los países en desarrollo y subdesarrollados del mundo. De manera similar, las afecciones inflamatorias crónicas, tales como artritis reumatoide y diálisis renal, conducen a la deposición secundaria y reactiva de proteína amiloide.

45

50

La proteína precursora amiloide (APP), que está codificada en el cromosoma 21, tiene un papel en la EA. La APP es una proteína transmembrana que penetra a través de la membrana neuronal, y es crítica para el crecimiento, supervivencia y reparación posterior a la lesión de neuronas. Por tanto, la pérdida de la APP de una neurona puede afectar a déficits fisiológicos y patofisiológicos que contribuyen a la demencia. Los datos clínicos de individuos con síndrome de Down (es decir, trisomía 21) muestran que desarrollan EA antes en la treintena a la cuarentena, ya que el gen para APP está en el cromosoma 21, y estos individuos presentan tres copias. Esto es similar a pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) que desarrollan cáncer de colon en la treintena y cuarentena en comparación con la población normal que lo desarrolla en la cincuenta a la ochenta. La APP se copia y se usa para sintetizar proteína amiloide.

55

60

El beta amiloide ($A\beta$) es la proteína amiloide específica implicada en la EA. Las placas amiloides están constituidas por pequeños péptidos, de 39-43 aminoácidos de longitud. El beta amiloide se produce a partir de la escisión secuencial de APP por la enzima 1 de escisión de la proteína precursora amiloide en el sitio beta (BACE-1) seguido de gamma-secretasa. En la EA, la gamma secretasa y la beta secretasa actúan juntas en una reacción catabólica proteolítica, escindiendo un fragmento más pequeño de APP. Estos fragmentos de

65

catabolismo de proteínas forman entonces fibrillas de beta amiloide, que forman adicionalmente masas depositadas fuera de las neuronas conocidas como placas seniles.

- 5 Debido a que $A\beta$ se acumula excesivamente en la EA, existe una inferencia lógica de que su precursor, APP, también se elevaría. Sin embargo, un estudio ha demostrado que los cuerpos de células neuronas contienen menos APP en función de su proximidad a las placas amiloides. Se ha teorizado que este déficit de APP cerca de las placas de $A\beta$ resulta de una disminución en la producción de APP que normalmente aumenta en respuesta al estrés.
- 10 Varios inhibidores de BACE-1, inhibidores de BACE-2 y anticuerpos monoclonales humanizados contra proteína amiloide soluble han estado en ensayos clínicos en AD. Estos ensayos no cumplieron la promesa de ser agentes farmacológicos modificadores de la enfermedad (DMD) (es decir, cambian la patología subyacente de la enfermedad) en la EA. De manera similar, se han probado vacunas para aclarar las placas de proteína amiloide en la EA todas en vano. A la luz de la falta de éxito de los ensayos clínicos que usan inhibidores de BACE, y el
- 15 falta de éxito de la inmunoterapia amiloide con solanezumab intravenoso, se ha puesto en duda la teoría de deposición de proteínas amiloides.

La hipótesis de la deposición de la proteína tau propone que las anomalías de la proteína tau inician la cascada de la enfermedad. En este modelo, tau hiperfosforilada comienza a emparejarse con otras hebras de tau. Eventualmente, forman ovillos neurofibrilares dentro de los cuerpos de células nerviosas. Cuando esto se produce, los microtúbulos se desintegran, destruyendo la estructura del citoesqueleto de la célula que colapsa el sistema de transporte de la neurona. Esto puede dar como resultado en primer lugar fallos en la comunicación bioquímica entre neuronas y posteriormente la muerte de las células.

25 La hipótesis neurovascular afirma que una cantidad sustancial de péptido $A\beta$ en el cerebro de pacientes con enfermedad de Alzheimer se origina en la circulación sistémica. Según esta teoría, está implicado un mal funcionamiento de la barrera hematoencefálica (BHE). Un efecto secundario de esta función deficiente es la producción de hiperfosforilación de tau y amiloide.

30 El príon (PrP) es una proteína que surge del plegamiento incorrecto de una proteína normal. Las dos formas de priones se denominan PrP^c , que es una proteína normalmente plegada, y PrP^{sc} , una forma con plegamiento incorrecto que da lugar a la enfermedad. Las dos formas no difieren en su secuencia de aminoácidos, sin embargo, la isoforma de PrP^{sc} patógena difiere de la forma de PrP^c normal en sus estructuras secundaria y terciaria. La isoforma de PrP^{sc} está más enriquecida en láminas beta, mientras que la forma de PrP^c normal está enriquecida en hélices alfa. Las diferencias de conformación permiten que PrP^{sc} se agregue con fibrillas de amiloide β y ser extremadamente resistente a la degradación de proteínas por enzimas o por otros medios químicos, de radiación y físicos. La forma normal, por otra parte, es susceptible a proteólisis completa y soluble en detergentes no desnaturizantes. Se ha sugerido que la PrP^{sc} preexistente o adquirida puede promover la conversión de PrP^c en PrP^{sc} , que convierte posteriormente otra PrP^c . Esto inicia una reacción en cadena que permite su rápida propagación, dando como resultado la patogénesis de enfermedades priónicas. La proteína PrP^c es uno de varios receptores celulares de oligómeros beta amiloides solubles ($A\beta$).

La secuencia genética altamente conservada de PrP, pero carente de la función caracterizada, ha desconcertado a los investigadores durante años. Los investigadores han intentado relacionar PrP y $A\beta$ a otras enfermedades pero no han tenido éxito. Algunas investigaciones han intentado plantear la hipótesis de que, debido a que $A\beta$ es un tipo de placa de proteínas, también debe estar relacionada con la enfermedad cardíaca. Sin embargo, algunas enfermedades cardíacas no contienen placas de $A\beta$, y una cantidad significativa de pacientes con EA no tienen enfermedad cardíaca. Los estudios que tratan la enfermedad cardíaca con antibióticos no han tenido éxito. No sólo estos estudios se han centrado en el tratamiento de bacterias en lugar de inflamación o acumulación de placa, sino que estos estudios concluyen que el tratamiento con antibióticos probablemente no tendrá efectos beneficiosos. Un estudio resumía el estado actual del campo como, "los datos de los ensayos clínicos hasta la fecha no han proporcionado respaldo adecuado para el uso clínico de antibióticos en la prevención primaria o secundaria de la cardiopatía coronaria". [Anderson *et al.*, 2004].

55 La apolipoproteína E (ApoE) transporta lípidos, vitaminas liposolubles y colesterol al sistema linfático y después a la sangre, que es el principal portador de colesterol en el cerebro. El gen para ApoE se mapea en el cromosoma 19. ApoE es polimórfica con tres alelos principales: ApoE- ϵ 2, ApoE- ϵ 3 y ApoE- ϵ 4. Aunque estas formas alélicas difieren entre sí en sólo uno o dos aminoácidos en las posiciones, estas diferencias alteran la estructura y función de la ApoE. Estas diferencias tienen consecuencias fisiológicas. ApoE- ϵ 4 tiene una frecuencia alélica de aproximadamente el 14 % y se ha implicado considerablemente en la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío (EAIT).

65 La investigación de una cura para la EA tampoco produce resultados prometedores. Los investigadores han probado el ámbito de tratamiento, desde los fármacos de diseño, a proteínas personalizadas, a antibióticos, pero ninguno ha sido exitoso. Numerosos estudios han sugerido que un tratamiento de antibióticos no podía curar la

EA. En 2013, los investigadores que llevaban a cabo un estudio sobre doxiciclina y rifampina declararon, "Conclusión: el tratamiento de doce meses con doxiciclina o rifampina, sola o en combinación, no tiene efectos beneficiosos sobre la cognición o función en la EA" [Molloy *et al.*, 2012].

5 Otro estudio que buscaba posibles tratamientos para la EA caracterizó el estudio de Molloy, "pero no hubo diferencias entre los grupos de tratamiento y placebo a los 3 y 12 meses. Sin embargo, no se detectaron efectos beneficiosos sobre la cognición o el funcionamiento cuando se usó doxiciclina sola o en combinación con rifampina" [Appleby *et al.*, 2013].

10 Otros estudios en los que los pacientes con EA se tratan con antibióticos muestran una disminución de la función cognitiva en grupos tanto tratados como no tratados. [Boyles 2003]. Los investigadores de la EA han sido escépticos de los regímenes antibióticos como tratamiento para la EA y un investigador comenta "no se propone que un ciclo a largo plazo de antibióticos vaya a ser un tratamiento, es simplemente absurdo por muchos motivos..." [Minter 2016].

15 Los investigadores también son escépticos de que otros fármacos puedan tratar la EA. El Instituto Nacional del Envejecimiento ha declarado que aunque los AINE actúan principalmente sobre la inflamación, hasta la fecha, no ha habido ensayos clínicos en los que los pacientes de EA se hayan beneficiado del uso real de los AINE. Los AINE se han considerado un mal candidato para la EA por varios motivos. Por uno, la EA a menudo se produce en pacientes ancianos, y los pacientes ancianos generalmente tienen corazones más débiles. De hecho, un estudio para comprobar si los AINE podían usarse para luchar contra la EA tuvo que detenerse porque existían preocupaciones sobre la salud cardiovascular de los participantes. [Terrie, 2009]. No se encontró que el acetaminofeno y la aspirina tuvieran efectos beneficiosos sobre la EA en un estudio. [Szekely *et al.*, 2008]. En otro estudio, el naproxeno y el celecoxib no mejoraron la función cognitiva en pacientes con EA [Martin *et al.*, 2007].

20 En este contexto de infecciones por complejos de proteínas priónicas, se recurre a varios fármacos que no se han propuesto para aplicación terapéutica en infecciones por complejos de proteínas priónicas. Por ejemplo, aunque se han probado anticuerpos modificados por ingeniería genética, los antibióticos no se han considerado como posibles terapias para las infecciones por complejos de proteínas priónicas. Otra clase no considerada anteriormente son los inmunosupresores.

25 Las tetraciclinas son un grupo muy antiguo de antibióticos bacteriostáticos que consiste en tetraciclina, doxiciclina y minociclina. Actúan inhibiendo la síntesis de proteínas en células bacterianas y protozoarias y en las mitocondrias de organismos eucariotas, inhibiendo así la unión del aminoacil-ARNt al complejo ribosomal de ARNm. Lo hacen principalmente uniéndose a la subunidad ribosómica 30S en el complejo de traducción del ARNm. Además de inhibir la síntesis de proteínas, estos fármacos son antiinflamatorios, liposolubles y tienen una alta concentración en el sistema nervioso central.

30 Sirólimus, también conocido como rapamicina, es un compuesto macrólido comercializado con el nombre comercial Rapamune® por Pfizer. Existen numerosos derivados de rapamicina (rapálogos) que funcionan como inhibidores de mTOR. Cada día se siguen investigando y desarrollando nuevos rapálogos. Sirólimus tiene efectos inmunosupresores en seres humanos y se usa para prevenir el rechazo de los trasplantes de riñón. Inhibe la activación de las células T y B al reducir su sensibilidad a la interleucina-2 (IL-2) mediante la inhibición de mTOR. Por su efecto sobre las células B impide que el sistema inmunitario humoral sintetice anticuerpos humorales contra el injerto renal. Sirólimus y sus rapálogos aumentan la autofagia y la mitofagia. XIN SHU-HUI *et al.*, Neurotoxicity Research, vol. 34, n.º 3, págs. 733-748, 2018 dan a conocer varios compuestos farmacéuticos tales como minociclina, sirólimus y atorvastatina como activos para eliminar beta amiloide y tau en la enfermedad de Alzheimer.

50 Descripción de los dibujos

La figura 1 es una fórmula esquelética de tetraciclina con átomos y cuatro anillos numerados y etiquetados.

55 La figura 2 es una fórmula para doxiciclina.

La figura 3 es una fórmula para minociclina.

La figura 4 es una fórmula para sirólimus.

60 La figura 5 es un diagrama conceptual que muestra la base para el crecimiento exponencial de la presencia de A β y PrP^{sc}.

65 Descripción detallada

La invención está definida por las reivindicaciones. Cualquier objeto que quede fuera del alcance de las

reivindicaciones se proporciona únicamente con fines informativos.

La EA no es una enfermedad cerebral localizada. La EA es una infección por complejos de proteínas priónicas y una enfermedad sistémica que afecta tanto al cuerpo como a la circulación periférica y las células B. La EA incluye una reacción localizada en la neocorteza. De hecho, una prueba de esto es el hecho de que la EA puede diagnosticarse en la saliva realizando pruebas para detectar el nivel de $A\beta_{42}$ (con prueba ELISA), la razón de $A\beta_{42/40}$ en sangre y el nivel de $A\beta_{42}$ cerebroespinal. Además, la EA puede iniciarse por una inflamación del cerebro provocada por otras enfermedades tales como la enfermedad de Parkinson y la encefalopatía traumática crónica (CTE) por traumatismos cerebrales repetidos, tal como en boxeadores y futbolistas.

La deposición de proteína beta amiloide observada en la EA es secundario a una afección neuroinflamatoria crónica en las neuronas que secretan acetilcolina de la corteza cerebral. Esta deposición de proteína amiloide comienza de diez a quince años antes del diagnóstico clínico de EA en el paciente y continúa hasta que el paciente muere. La transcripción del gen de APP y la transcripción de ARN son las etapas limitativas de la velocidad y son los más susceptibles de bloquear y controlar en el proceso de formación de la proteína amiloide. Por tanto, en el presente documento se describe o propone una cura para la EA basada en la interrupción de este proceso al nivel de la transcripción del ADN a ARN transcrito (ARNt), ARN mensajero, (ARNqm), transporte de ARN a la mitocondria para la síntesis de proteínas y su deposición en las neuronas de la corteza cerebral. Este es el objetivo principal del esfuerzo por introducir los primeros DMD en la EA.

Esta neuroinflamación en la neocorteza es concomitante con la secreción localizada de beta amiloide en las fibras nerviosas de la memoria que secretan acetilcolina y la secreción de péptidos de la proteína priónica celular (PrP^c) y péptidos de la proteína tau. Debido a la neurotoxicidad de los oligómeros de la proteína amiloide, se produce un plegamiento incorrecto de los péptidos PrP^c, convirtiéndolos de una estructura de hélice alfa en una estructura de hélice beta (es decir, PrP^{sc}). La estructura de hélice beta PrP^{sc} interactúa con las fibrillas de $A\beta$ y comienza a colocar láminas de fibrillas de $A\beta$ que son neurotóxicas y provocan neurotoxicidad y muerte de fibras nerviosas y células nerviosas, creando placas amiloides patognomónicas y ovillos de proteína tau.

La figura 5 demuestra la base para el crecimiento exponencial de la presencia de $A\beta$ y PrP^{sc} en la EA. Tal como se muestra en la figura 5, cuando PrP^{sc} se aplica a PrP^c, PrP^c se pliega de manera incorrecta para dar PrP^{sc}. El mismo comportamiento surge con APP y $A\beta$: $A\beta$ es una semilla para producir más $A\beta$ a partir de APP. Sin embargo, estos dos ciclos no son independientes. Son interdependientes. Es decir, las semillas de $A\beta$ convierten PrP^c en PrP^{sc}, y las semillas de PrP^{sc} producen $A\beta$ a partir de APP. Por tanto, esta mezcla perniciosa de $A\beta$ y PrP^{sc} en el corazón del complejo de proteína priónica en las placas amiloides características de la EA conduce a un ciclo de muerte que no puede detenerse mediante una terapia que sólo interfiere con el plegamiento incorrecto de PrP^c para dar PrP^{sc}, o sólo interfiere con la producción de $A\beta$ a partir de APP. La terapia descrita en el presente documento aborda ambos tipos de plegamiento incorrecto y generación de una proteína precursora (u oligopéptidos).

La EA puede tratarse y prevenirse mediante dos formas de tratamiento. La proteína beta amiloide, presente en la sangre, se difunde hacia el líquido cefalorraquídeo que baña el cerebro y la neocorteza. Esto crea una reacción neocortical secundaria con la colocación de láminas de fibrillas de beta amiloide, lo que provoca la muerte y destrucción de las células de la memoria y crea placas amiloides y ovillos neurofibrilares de proteína tau. Una forma de tratamiento usa un inmunosupresor para abordar la reacción sistémica de las células B humorales y la transcripción, traducción y síntesis de la proteína priónica. La otra forma de tratamiento usa un antibiótico para abordar la síntesis de la proteína beta amiloide. Los beneficios se obtienen combinando las formas de tratamiento.

La EA surge de un complejo de proteínas priónicas rebeldes: una mezcla perniciosa. Este complejo de proteínas priónicas rebeldes consiste en fibrillas de $A\beta$ y fibrillas de proteína receptora de priones (PRP) β (PrP^{sc}). La reacción natural del cuerpo al complejo de proteínas priónicas rebeldes es un mecanismo de autodefensa que a su vez daña el tejido. Estos mecanismos de defensa toman la forma de un Pacman autoensamblado que ataca y come el complejo de proteínas priónicas rebeldes. La lesión del tejido correspondiente es la culpable de la patogénesis de la EA y otras infecciones por complejos de proteínas priónicas.

El componente de enfermedad sistémica de la EA puede tratarse con un inmunosupresor tal como sirólimus. Sirólimus, por su efecto sobre las células B, impide que el sistema inmunitario humoral sintetice anticuerpos humorales y APP. Esto anula el componente sistémico de la patogénesis de la EA. Actualmente, el sirólimus sólo se receta a pacientes sometidos a trasplantes y con determinados tipos de cáncer. No hay indicación para combinar sirólimus con tetraciclina. Sirólimus también inhibe la formación de anticuerpos y anula la síntesis de la proteína beta amiloide por las células plasmáticas y las células B en general. También suprime el sistema inmunitario innato y las citocinas producidas por la microglía y los macrófagos tales como TNF α , IL-1 β , IL-6 e interferón gamma.

Los efectos localizados de la EA en el sistema nervioso central (SNC) pueden tratarse con antibióticos tales

como las tetraciclinas. Las tetraciclinas bloquean la síntesis de proteínas por sus efectos sobre la transcripción, la traducción y la unión a los complejos proteicos ribosómicos. Los compuestos de tetraciclina pueden abordar el componente neocortical/SNC de la patogénesis de la EA al inhibir la transcripción del gen de APP en el cromosoma 21 y la transcripción del gen de PrP en el cromosoma 20. Además, las tetraciclinas bloquean la traducción del gen y la síntesis de proteínas uniéndose a las subunidades 30S y 50S del complejo proteico ribosómico.

La doble acción a través del tratamiento tanto del componente de la enfermedad sistémica como de los efectos localizados en el SNC conduce al impedimento o a la abolición del efecto del complejo de proteínas priónicas rebeldes en la EA. Al inhibir la transcripción y bloquear la síntesis de proteína amiloide en pacientes con EA, se detiene una deposición de proteína amiloide adicional en la corteza cerebral y la posterior neurotoxicidad, daño neuronal y pérdida de memoria y función. Por consiguiente, los pacientes recuperan la función y pueden participar en sus actividades de la vida diaria y en las interacciones con los miembros de la familia. De manera similar, al bloquear la transcripción y síntesis de PrP^{sc}, se altera la segunda parte del complejo de proteínas priónicas rebeldes.

Los pacientes con EA pueden clasificarse en tres tipos. En el tipo I, el paciente tiene síndrome de Down, y esto representa aproximadamente el 0,001 % de todos los casos de EA. En los pacientes de tipo I, la EA se manifiesta aproximadamente a los 30-40 años de edad. Su marcador genético es la trisomía 21. En el tipo II, el paciente tiene enfermedad de Alzheimer de inicio temprano (EAIP), y esto representa aproximadamente del 1 al 5 % de todos los casos de EA. En los pacientes de tipo II, la EA se manifiesta aproximadamente a los 50-60 años de edad. Su marcador genético es PSEN1 y PSEN2 en los cromosomas 14 y 1 respectivamente. En el tipo III, el paciente tiene la enfermedad de Alzheimer de inicio tardío (EAIT), y esto representa aproximadamente el 95 % de todos los casos de EA. En los pacientes de tipo III, la EA se manifiesta aproximadamente a los 65-90 años de edad. Dos tercios de los pacientes con tipo III son positivos para APOE ε4 y APOE ε4 se encuentra en el cromosoma 19. Los pacientes de tipo III pueden distinguirse además como o bien positivos para APOE ε4 o bien negativos para APOE ε4.

El tipo III positivo para APOE ε4 produce una proteína apolipoproteína E (ApoE) defectuosa. Esta proteína defectuosa dificulta que el cuerpo metabolice proteínas, grasas y lípidos, y dificulta que el cuerpo envíe nutrientes y colesterol al cerebro. Por tanto, los pacientes positivos para APOE ε4 se ven más afectados cuando desarrollan EA, en comparación con los pacientes con EA de tipo III que todavía producen APOE funcional (negativos para APOE ε4).

Las terapias adecuadas pueden depender de la caracterización de la EA que tenga el paciente. Todos los tipos se beneficiarán de una combinación de un antibiótico tal como tetraciclina con un inmunosupresor tal como sirólimus. Los pacientes con tipo III que son positivos para APOE ε4 también deben recibir una estatina lipófila tal como atovar (atorvastatina), que atraviesa la barrera hematoencefálica.

Una dosis puede tomar la forma de una dosis unitaria. Es decir, una dosis unitaria es una pastilla, un comprimido o una cápsula: una y sólo una.

Para un adulto, una terapia apropiada puede ser una de las siguientes: (a) 50 mg de tetraciclina, 1 mg de sirólimus, 10 mg de atorvastatina; (b) 50 mg de tetraciclina, 1 mg de sirólimus, 20 mg de atorvastatina; (c) 100 mg de tetraciclina, 1 mg de sirólimus, 40 mg de atorvastatina; (d) 100 mg de minociclina, 1 mg de sirólimus, 80 mg de atorvastatina; (e) 50 mg de tetraciclina, 2 mg de sirólimus, 10 mg de atorvastatina; (f) 50 mg de tetraciclina, 2 mg de sirólimus, 20 mg de atorvastatina; (g) 100 mg de tetraciclina, 2 mg de sirólimus, 40 mg de atorvastatina; (h) 100 mg de minociclina, 2 mg de sirólimus, 80 mg de atorvastatina; (i) 2 mg de sirólimus, 100 mg de minociclina y 20 mg de atorvastatina. Obsérvese que las dosis de atorvastatina pueden administrarse dos veces durante el día, por ejemplo, para lograr una dosis de 20 mg, un paciente puede tomar 10 mg de atorvastatina por la mañana y 10 mg de atorvastatina en otro momento. Las tetraciclinas enumeradas anteriormente pueden ser minociclina o doxiciclina. También pueden usarse otras tetraciclinas orales o intravenosas. También pueden usarse simvastatina y lovastatina, ambas lipófilas.

Los médicos que recetan este enfoque de tres fármacos deben ser conscientes de los efectos de las estatinas sobre los niveles de colesterol y triglicéridos del paciente. En los casos en los que no debe usarse atorvastatina, puede cambiarse la atorvastatina por otra estatina mencionada anteriormente. La dosis de la nueva estatina puede ser la misma que la de la atorvastatina o ajustarse basándose en los efectos de la estatina. Para pacientes con colesterol alto o enfermedad cardíaca, la dosis de estatina o atorvastatina puede ajustarse ligeramente además para tener en cuenta la química sanguínea y los efectos neurológicos del paciente.

Si se fabrica un medicamento de tres fármacos que incluye minociclina o doxiciclina, sirólimus y atorvastatina, es posible que sea necesario fabricar y distribuir diferentes medicamentos con diferentes dosis de atorvastatina a pacientes con determinadas enfermedades. Por ejemplo, si se elabora una pastilla que contiene los tres fármacos, una pastilla para la mayoría de la población afectada por EA puede contener 50 mg de minociclina, 1

mg de sirólimus y 40 mg de atorvastatina, pero para los pacientes que ya padecen colesterol alto y EA, puede ser necesaria otra pastilla que contenga 50 mg de minociclina, 1 mg de sirólimus y 80 mg de atorvastatina. En otros casos, para los pacientes que ya toman una dosis separada de atorvastatina u otra estatina, puede producirse una pastilla con dosis más baja de atorvastatina, tal como 50 mg de minociclina, 1 mg de sirólimus y 20 mg de atorvastatina. La composición farmacéutica según la invención comprende 100 mg de minociclina o una sal farmacéutica de la misma, 2 mg de sirólimus o una sal farmacéutica del mismo y 20 mg de atorvastatina o una sal farmacéutica de la misma.

La eficacia de la terapia descrita en el presente documento puede ser evidente en tan sólo 72 horas. Otras veces la eficacia puede verse en de tres a doce meses. Una vez que el tratamiento sea eficaz, el paciente puede suspender la terapia bajo observación controlada para detectar recaídas y posibles retratamientos o continuar con una dosis de mantenimiento. Para los pacientes con EA, la eficacia puede medirse mediante la subescala de la Escala de Evaluación Cognitiva de la Enfermedad de Alzheimer (ADAS-Cog) y la escala de Estudio Cooperativo de Actividades de la Vida Diaria de la Enfermedad de Alzheimer (ADCS-ADL) o el Miniexamen del Estado Mental (MMSE). Ambas pruebas se han desarrollado durante muchos años y se espera que sigan perfeccionándose.

La frecuencia con la que se toman los medicamentos puede variar, al igual que la hora del día. Para algunos pacientes puede ser suficiente cada día o cada dos días, o tres días de tratamiento y dos días de descanso. Estos son ejemplos de un descanso farmacológico. La dosificación puede ser diferente de un día a otro. La hora del día para tomar el medicamento puede seleccionarse para que el paciente tenga el estómago vacío para una mejor absorción.

Los fármacos de la terapia pueden administrarse juntos, por separado o al menos uno por separado y al menos algunos juntos. Los fármacos de la terapia pueden administrarse por vía oral (por ejemplo, comprimidos), tópica (por ejemplo, parches), intranasal (por ejemplo, inhalación) o parenteral, tal como, por ejemplo, mediante formulaciones de acción inmediata o mediante formulaciones de liberación sostenida, formulaciones inyectables de semivida prolongada o al menos una formulación de liberación sostenida, y al menos una formulación inyectable de semivida prolongada.

Los niveles de dosificación pueden variarse, con dosificaciones diarias de doxiciclina tan bajas como 40 mg, de minociclina tan bajas como 25 mg y de sirólimus tan bajas como 0,5 mg. En el extremo superior, las dosificaciones pueden ser de hasta 400 mg (por ejemplo, 200 mg dos veces al día) de doxiciclina, 300 mg (por ejemplo, 150 mg dos veces al día) de minociclina y 4 mg (por ejemplo, 2 mg dos veces al día) de sirólimus. Las dosificaciones especificadas anteriormente son para un adulto medio y la dosificación puede estar correlacionada con el peso corporal, recibiendo los pacientes con mayor peso una dosis mayor y recibiendo los pacientes con menor peso dosis menor. No es necesario que las dosificaciones estén correlacionadas con la edad. Las dosificaciones pueden ser de liberación lenta.

Puede usarse un aumento progresivo de la dosis con tetraciclinas, inmunosupresores y estatinas. Puede usarse un aumento progresivo de la dosis para hacer que la terapia sea más potente o aliviar los efectos secundarios adversos provocados por los medicamentos, o hacer que los efectos secundarios aparezcan más adelante en el tratamiento, reduciendo así la incomodidad del paciente. Los tratamientos citados pueden modificarse mediante un aumento progresivo de la dosis. El aumento progresivo de la dosis puede realizarse a lo largo de días o semanas, tal como el 25 % de la dosis completa el primer día o semana, el 50 % el segundo, el 75 % el tercero y el 100 % posteriormente. Otros aumentos progresivos de la dosis pueden tomar la forma de una dosis del 50 % durante un periodo inicial y luego del 100 %.

Pueden usarse otros antibióticos que inhiben la transcripción, traducción y síntesis de genes de proteínas. Las tetraciclinas usadas pueden ser sintéticas, semisintéticas o que se producen de manera natural. Además, si en el futuro se inventan más tetraciclinas sintéticas, esas tetraciclinas probablemente también serían útiles debido a la estructura básica común de todas las tetraciclinas. Puede usarse la siguiente lista de tetraciclinas: clortetraciclina, oxitetraciclina, demeclociclina, limeciclina, meclociclina, metaciclina, minociclina, rolitetraciclina, gliceciclinas, tigeciclina, omadaciclina, sareciclina y eravaciclina. La composición farmacéutica según la invención comprende minociclina o una sal farmacéutica de la misma.

Pueden usarse otros inmunosupresores que bloquean la función de las células B y la síntesis de beta amiloide y PrP^{sc}, tales como ciclosporina, tacrólimus y everólimus. También pueden usarse macrólidos. Los macrólidos apropiados incluyen azitromicina, claritromicina, eritromicina, fidaxomicina y telitromicina. También pueden usarse otros inmunosupresores, incluyendo corticosteroides, inhibidores de la cinasa Janus, inhibidores de la calcineurina, inhibidores de mTOR, inhibidores de IMDH, productos biológicos y anticuerpos monoclonales. La composición farmacéutica según la invención comprende sirólimus o una sal farmacéutica del mismo.

Las estatinas pueden usarse en pacientes con tipo III y positivos para APOE ε4. Las estatinas apropiadas incluyen atovar, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, lovastatina, mevastatina, pitavastatina, pravastatina, ácido fenofibrato, alirocumab, etravirina, ciproterona, posaconazol, ticagrelor, bezafibrato, coenzima Q-10,

colesevelam, rosuvastatina, simvastatina, simvastatina + ezetimiba, lovastatina + niacina de liberación prolongada, atorvastatina + amlodipina y simvastatina + niacina de liberación prolongada. La composición farmacéutica según la invención comprende atorvastatina o una sal farmacéutica de la misma.

- 5 Puede ser necesario un enfoque de tres fármacos para determinados pacientes sometidos a terapia contra la EA. Los pacientes pueden requerir una terapia que consista en minociclina, sirólimus y atorvastatina. La atorvastatina también se conoce como Lipitor®. La dosificación de atorvastatina puede oscilar entre 1 mg y 100 mg. Una dosificación adecuada puede incluir 50 mg de minociclina, 1 mg de sirólimus y 10 mg de atorvastatina. En caso de que no se use atorvastatina y deba usarse otra estatina, el intervalo de otra estatina puede ser de 0,01 mg -
 10 200 mg. Por ejemplo, si se usa cerivastatina, una dosificación adecuada sería mucho menor, tal como 0,8 mg de cerivastatina, 50 mg de minociclina y 1 mg de sirólimus.

15 A pesar de la falta de éxito de los inhibidores de BACE en el tratamiento de la EA, la hipótesis de la deposición de proteína amiloide es válida. Estos estudios no tuvieron éxito porque los inhibidores actuaron aguas abajo en el metabolismo de la proteína amiloide. Las terapias descritas en el presente documento funcionan a nivel de transcripción de ADN a ARN y transporte de ARN a la mitocondria para la síntesis de proteínas uniéndose a las subunidades 30S y 50S del ARN para bloquear la síntesis de proteína amiloide. Además, el catabolismo celular normal elimina la proteína beta amiloide ya depositada.

20 Las terapias de combinación para la EA funcionan. En ensayos realizados por médicos, los pacientes sometidos a la terapia de combinación con tres fármacos lograron resultados inesperados. El tratamiento de varios pacientes, incluyendo dos identificados como paciente A y paciente B en el presente documento, con una combinación de dosis y selecciones apropiadas de un antibiótico, un inmunosupresor y una estatina demostró resultados sorprendentemente buenos. No se hubiera esperado el hecho de que el tratamiento funcionara, a
 25 pesar de la falta de éxito anterior de otros y de las abundantes dudas en el campo, y el hecho de que funcionara tan rápido fue un beneficio agradable e inesperado.

El paciente A es un hombre E3/E4 de 54 años positivo para APO_{E4} que padeció EA durante cinco años antes del tratamiento. El paciente A tenía problemas para formar oraciones completas y necesitaba la ayuda de un cuadro con imágenes para comunicarse. Para funciones básicas tales como comer o ir al baño, el paciente tenía que
 30 hacer gestos con las manos o señalar imágenes que mostraran las actividades en un cuadro. El paciente A mostró signos extremos de frustración y, en ocasiones, se portó mal cuando los cuidadores no podían entenderlo. El paciente A también tuvo problemas para completar tareas sencillas. El paciente A no podía atarse los zapatos y, a menudo, agarraba con torpeza varias veces los pomos de las puertas al intentar abrir una
 35 puerta. Antes del tratamiento se realizó la prueba de recuerdo de palabras adaptada de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer. El paciente no podía recordar ni comunicar ninguna palabra de la prueba.

El paciente A se trató con 2 mg de sirólimus y 100 mg de minociclina y 20 mg de atorvastatina una vez al día durante cuatro meses. El paciente A experimentó una recuperación del habla y pudo formar frases cortas y, a
 40 veces, completar oraciones completas. El uso del paciente A de un cuadro con imágenes aumentó, se sintió menos frustrado y se portó menos mal con sus cuidadores. El paciente A experimentó afasia resuelta, mejor memoria a corto plazo y mejor memoria a largo plazo. Se realizó la prueba de recuerdo de palabras adaptada de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer y el paciente pudo recordar hasta cinco palabras.

45 El paciente B es un hombre de 65 años positivo para APO_{E4} que padece EA. El paciente B tenía problemas con las tareas cotidianas, tales como vestirse, recordar comer, comunicarse con los cuidadores y recordar a los miembros de su familia. Muchas veces, al abotonarse la camisa, se olvidaba de abrochar los botones o los desalineaba. Olvidaba prendas de vestir tales como calcetines o ropa interior y tenía problemas para ponerse los
 50 zapatos. Un cuidador tendría que preparar las comidas y recordarle al paciente B que las comiera. El paciente B también tenía dificultades para recordar por qué los cuidadores estaban en su casa y preguntaba constantemente por su identidad. El paciente B podía recordar y entablar una conversación con sus hijos, pero a mitad de las conversaciones a menudo les preguntaba quiénes eran, como si fueran extraños. Antes del tratamiento se realizó la prueba de recuerdo de palabras adaptada de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer. El paciente B pudo recordar una palabra en cada una de las tres veces que se administró la
 55 prueba.

El paciente B se trató con 2 mg de sirólimus, 100 mg de minociclina y 20 mg de atorvastatina una vez al día durante dos meses. El paciente B experimentó mejoras en la memoria a corto plazo y mejoras en la memoria a largo plazo. Al paciente B ya no le faltaban botones y podía vestirse perfectamente. El paciente B no olvidó las
 60 comidas que le prepararon sus cuidadores. La indagación sobre quiénes eran sus hijos y cuidadores se produjo con menos frecuencia. Cuando se realizó la prueba de recuerdo de palabras adaptada de la escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer después del tratamiento, el paciente B pudo recordar hasta 4 palabras.

65 Los investigadores no han logrado tratar con éxito la EA porque no han podido comprender cómo es la fisiopatología de la enfermedad y cómo funciona, y que un único fármaco no será suficiente para tratar la

enfermedad. Este es el motivo por el que los investigadores que usan tetraciclinas solas o estatinas solas para tratar la EA no han tenido éxito.

Comentarios finales

5

La enfermedad de Alzheimer es una enfermedad compleja que presenta varias dianas farmacológicas, incluyendo a. amiloidosis intracerebral, b. amiloidosis sistémica, c. APO_{E4} y dismetabolismo lipídico en astrocitos y microglía en el SNC, d. neuroinflamación cerebral, f. inflamación sistémica por el factor de necrosis tumoral alfa y la interleucina 1 b e IL 6. Estas dianas requieren una terapia farmacológica de combinación. En el caso más simple, la terapia contra la EA puede simplificarse a una terapia con dos fármacos para la EA negativa para APO_{E4} (E2/E3) y una terapia con tres fármacos para la EA positiva para APO_{E4}.

10

Tal como se usa en el presente documento, "pluralidad" significa dos o más. Tal como se usan en el presente documento, ya sea en la descripción escrita o en las reivindicaciones, los términos "que comprende", "que incluye", "que porta", "que tiene", "que contiene", "que implica" deben entenderse como abiertos, es decir, significan incluir pero sin limitarse a. Sólo las frases de transición "que consisten en" y "que consisten esencialmente en", respectivamente, son frases de transición cerradas o semicerradas con respecto a las reivindicaciones. Tal como se usa en el presente documento, "y/o" significa que los elementos citados son alternativas, pero las alternativas también incluyen cualquier combinación de los elementos citados.

15

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición farmacéutica que consiste en: un antibiótico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el antibiótico comprende 100 mg de minociclina; un inmunosupresor o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que el inmunosupresor comprende 2 mg de sirólimus; una estatina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en la que la estatina consiste en 20 mg de atorvastatina; y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 10 2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, para su uso en el tratamiento de un individuo que padece la enfermedad de Alzheimer.

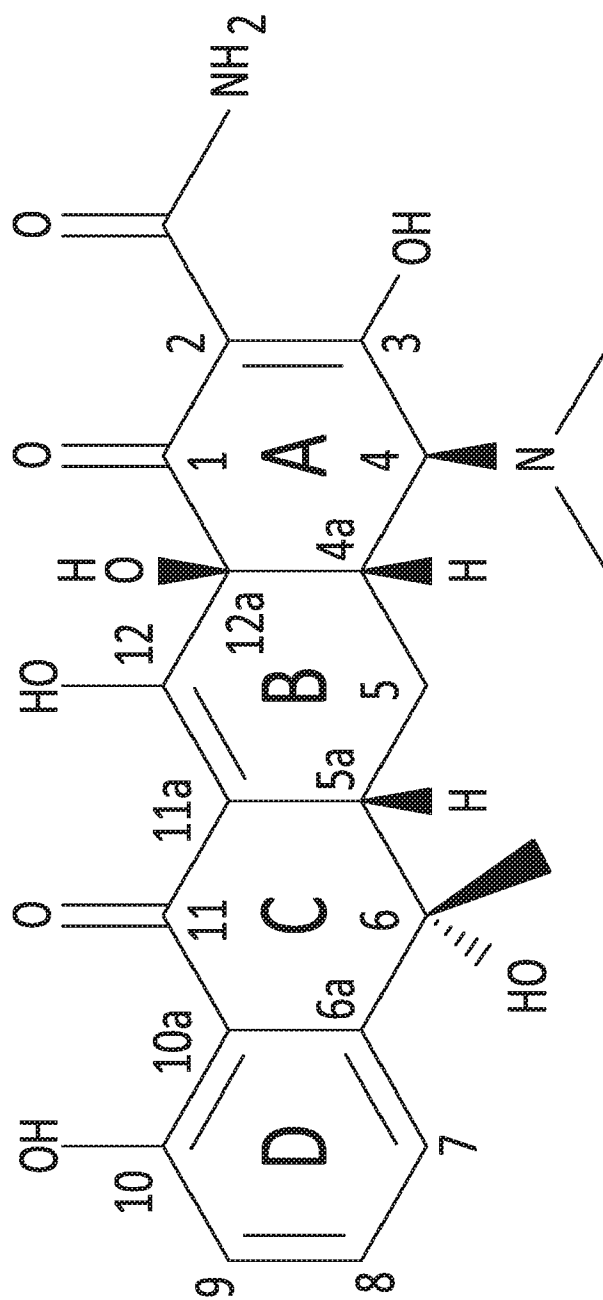


FIG. 1

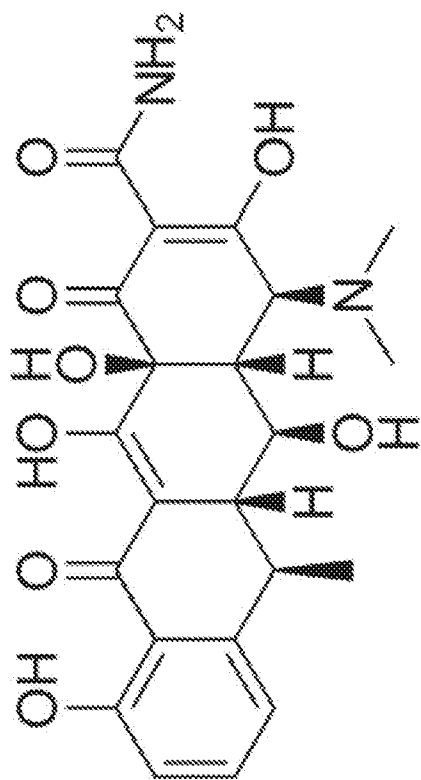


FIG. 2

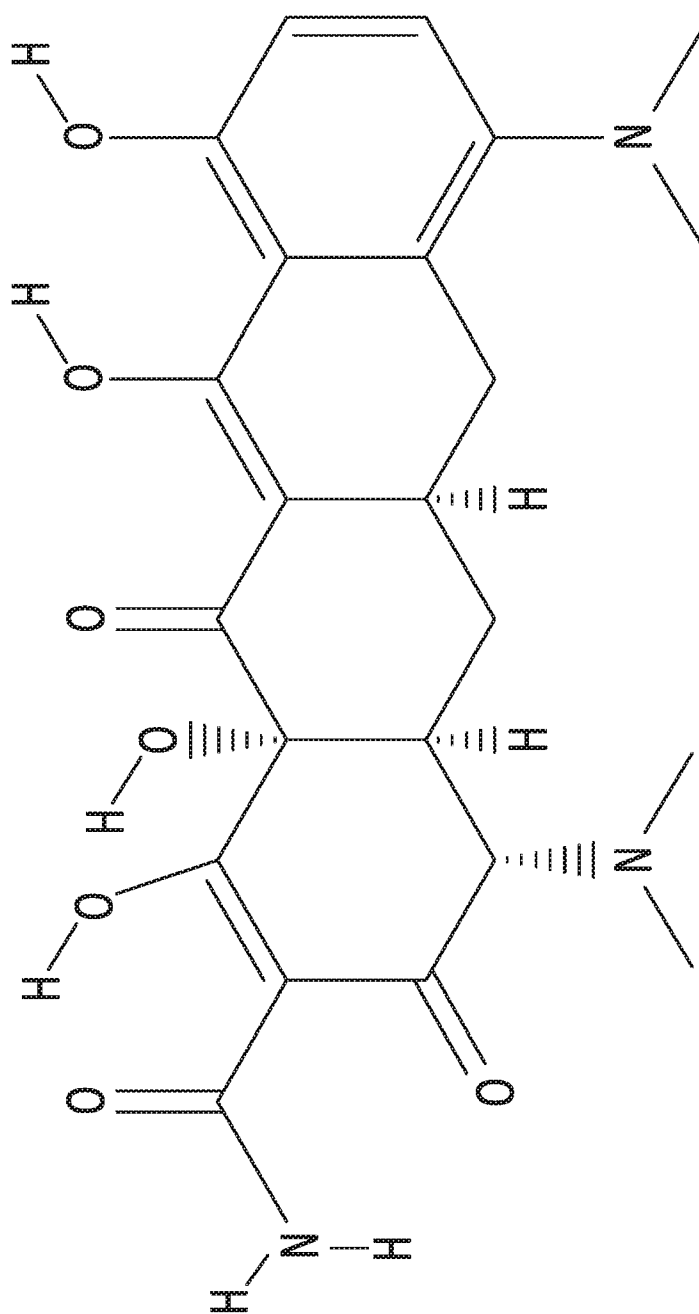


FIG. 3

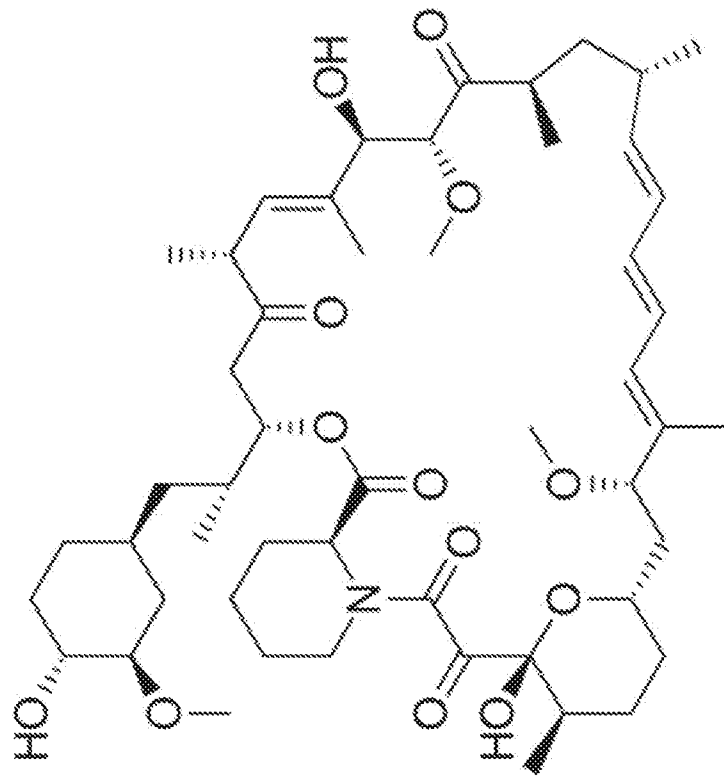


FIG. 4

