

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 392 391**

51 Int. Cl.:

A61K 31/185 (2006.01)

A61K 31/255 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **99903869 .8**

96 Fecha de presentación: **11.02.1999**

97 Número de publicación de la solicitud: **1054664**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **29.11.2000**

54 Título: **Método para modular la activación de macrófagos**

30 Prioridad:

11.02.1998 US 74295 P
10.02.1999 US 248396

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:

10.12.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:

10.12.2012

73 Titular/es:

BHI LIMITED PARTNERSHIP (100.0%)
275 Armand-Frappier Boulevard
Laval, QC H7V 4A7, CA

72 Inventor/es:

MORISSETTE, CELINE y
GERVAIS, FRANCINE

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 392 391 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

Método para modular la activación de macrófagos.

Antecedentes de la invención

5 Las proteínas amiloidogénicas son un grupo de proteínas que son capaces de organizarse en depósitos de proteínas fibrilares extracelulares. Estas proteínas, aunque son de diferente naturaleza, tienen una única serie de propiedades estructurales: se unen a la tinción con Rojo Congo y presentan una birrefringencia verde manzana cuando se observan bajo una luz polarizada.

10 La deposición extracelular de proteína A β en regiones específicas del cerebro es uno de los rasgos característicos de la Enfermedad de Alzheimer. La proteína A β procede de una escisión proteolítica anómala de la proteína precursora, la β APP. Una vez depositada en el cerebro, forma placas seniles que se han encontrado en mayores cantidades en los cerebros de pacientes con la Enfermedad de Alzheimer. También se ha demostrado que se infiltra en las paredes cerebrovasculares y produce angiopatía. A la deposición de fibrillas amiloides de A β en las placas seniles le acompaña una pérdida progresiva de células neuronales. *In vitro*, varios grupos han demostrado que la A β es muy tóxica para las neuronas. La Ferla et al. han descubierto recientemente que las células neuronales, cuando se exponen *in vitro* a A β soluble, pueden volverse apoptóticas. Una vez internalizada, la proteína A β se estabiliza e induce la fragmentación del ADN, que es característica de la apoptosis. Se ha demostrado que el dominio 25-35 de la proteína A β es responsable de dicha actividad excitotóxica. Estos resultados han llevado a los científicos a considerar que no sólo la organización de fibrillas A β en placas seniles, que se observan tarde en la enfermedad, serían perjudiciales para el hospedador, sino que también la proteína A β soluble puede inducir pérdida de células neuronales antes en el proceso de enfermedad.

20 También se han observado células microgliales activadas en cerebros de pacientes con la Enfermedad de Alzheimer. Se cree que el proceso de activación de estos macrófagos cerebrales es responsable de la presencia de mediadores inflamatorios en extractos cerebrales. Estos mediadores, por ejemplo, citocinas inflamatorias, óxido nítrico e intermedios de oxígeno reactivo, podían jugar un papel importante en la inducción de la toxicidad de células neuronales. Recientemente se ha mostrado que la proteína A β soluble es capaz de internalizarse por las células microgliales e inducir un proceso de activación como se determina por la producción de mediadores inflamatorios tales como NO (Barger et al.). Giulian et al. también han demostrado que este proceso de activación se debe a un dominio específico de A β : el dominio de restos 10-16. Es posible que este proceso de activación se deba a la adherencia de la proteína (en particular, el dominio 10-16 de la proteína A β) a la superficie celular de los macrófagos.

30 El documento W096/28187 desvela compuestos terapéuticos y métodos para inhibir la deposición amiloide en un sujeto, sea cual sea su situación clínica. La deposición de amiloide se inhibe mediante la administración a un sujeto de una cantidad eficaz de un compuesto terapéutico que comprende un grupo aniónico y una molécula portadora, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de tal forma que se inhiba la interacción entre la proteína amiloidogénica y un constituyente de la membrana basal.

35 T. Nakada e I. L. Kwee describen en *NeuroReport* 4, 1035-1038 (1993) una categoría de agentes, denominados "desplazadores alcalinos del pH cerebral". Usando el agente prototipo, guanidinoetano sulfonato (GES), se demostró el desplazamiento alcalino real del pH en cerebros de ratones adultos por espectroscopia *in vivo* de resonancia magnética nuclear (RMN) con 31-fósforo (^{31}P). Los autores afirman que también se demostró que este desplazamiento alcalino reducía eficazmente el grado de acidosis láctica intracelular del cerebro producida por un estímulo anóxico dañino. Se dice que estos descubrimientos confirman la creencia de que un desplazamiento alcalino del pH puede proteger al cerebro frente a los efectos perjudiciales de la acidosis láctica. Como se ha demostrado que un pH mayor reduce significativamente la deposición de beta-amiloide, Nakada y Kwee especulan que los agentes de desplazamiento alcalino también pueden tener potencial terapéutico en la enfermedad de Alzheimer.

Sumario de la invención

45 Ahora se ha descubierto que ciertos compuestos aniónicos, incluyendo sulfonatos, son capaces de bloquear la activación de macrófagos inducida por A β (o activación de macrófagos inducida por otras proteínas o péptidos amiloidogénicos). Al interferir con la capacidad de A β para activar los macrófagos, dichos compuestos pueden inhibir el proceso inflamatorio, por ejemplo, en el cerebro de un sujeto que padece una enfermedad caracterizada por deposición de A β , tal como la enfermedad de Alzheimer.

50 De esta manera, la presente invención proporciona el uso de ácido 3-aminopropanosulfónico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (véase el ejemplo, más adelante), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de indicaciones médicas como las especificadas en la reivindicación 1 adjunta. En las reivindicaciones dependientes adjuntas se especifican realizaciones preferidas de la presente invención. De esta manera, en una realización, el medicamento es para uso en un método para inhibir un proceso inflamatorio (por

- ejemplo, un proceso inflamatorio debido a la presencia de, o activación de macrófagos por, una proteína o péptido amiloidogénico). El método comprende administrar a un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un sujeto que tiene deposición de amiloide) una cantidad terapéutica eficaz de un compuesto aniónico, de tal forma que el proceso inflamatorio se inhiba, por ejemplo, por inhibición de activación de macrófagos por una proteína o péptido amiloidogénico, tal como A β . El sujeto es un sujeto que tiene una afección o enfermedad en la que están presentes proteínas o péptidos amiloidogénicos A β .

Breve descripción de los dibujos

- La Figura 1 es un gráfico de barras que muestra el efecto de diversas condiciones sobre la producción de óxido nítrico (NO) por los macrófagos en cultivo celular.
- 10 La Figura 2 es un gráfico de barras que muestra el efecto de diversas condiciones sobre la producción de TNF α inducida por A β por macrófagos en cultivo celular.
- La Figura 3 es un gráfico que muestra la capacidad de un compuesto de la invención, ácido 3-aminopropanosulfónico, de bloquear o inhibir la activación de macrófagos.

Descripción detallada de la invención

- 15 La invención proporciona el uso de ácido 3-aminopropanosulfónico para la fabricación de un medicamento destinado a tratamientos terapéuticos para sujetos que padecen afecciones, incluyendo inflamación y muerte de células neuronales, en sujetos que tienen una afección o enfermedad en la que están presentes proteínas o péptidos amiloidogénicos A β . Mediante la inhibición de la capacidad de A β de inducir el proceso de activación de macrófagos, puede ralentizarse o prevenirse la pérdida de células neuronales debida al estado inflamatorio del cerebro.

- 20 Como se usa en el presente documento, las expresiones "inhibición de la activación de macrófagos" o "inhibición de un proceso inflamatorio" se refiere a la reducción, inhibición, ralentización, alivio o inversión del curso o grado de activación de macrófagos o inflamación, respectivamente, *in vitro* o en un sujeto.

- En un aspecto, la administración del medicamento fabricado de acuerdo con la invención tiene el efecto de inhibir la activación de macrófagos por una proteína o péptido amiloidogénico. El compuesto a usar en la invención tiene únicamente un grupo aniónico. Por lo tanto, el número de grupos aniónicos no es tan grande como para inhibir el traspaso de una barrera anatómica, tal como una membrana celular, o la entrada a través de una barrera fisiológica, tal como la barrera hematoencefálica, en situaciones en las que se desean dichas propiedades.

- 25 Un compuesto aniónico de la invención típicamente comprende además un contraión. Los grupos catiónicos incluyen átomos y restos cargados positivamente. Los grupos catiónicos incluyen átomos y restos cargados positivamente. Si el grupo catiónico es hidrógeno, H⁺, entonces el compuesto se considera un ácido, por ejemplo ácido etanosulfónico. Si el hidrógeno se reemplaza por un metal o su equivalente, el compuesto es una sal del ácido. Dentro del alcance de la invención se incluyen sales farmacéuticamente aceptables del compuesto aniónico. Por ejemplo, el grupo catiónico puede ser un catión de metal alcalino o alcalinotérreo farmacéuticamente aceptable, de mayor valencia (por ejemplo sal de aluminio), contraión policatiónico o amonio. Una sal farmacéuticamente aceptable es una sal de sodio, pero también se contemplan dentro de su clase farmacéuticamente aceptable otras sales.

- Dentro del compuesto aniónico, el grupo aniónico está unido covalentemente a una molécula portadora. La molécula portadora es 3-aminopropano.

- 40 Como se usa en el presente documento, el término "amino" significa -NH₂. De esta manera, el término "alquilamino", como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, que tiene un grupo amino unido al mismo.

Formulaciones farmacéuticamente aceptables

- En la invención, el compuesto aniónico puede administrarse en una formulación farmacéuticamente aceptable. La presente invención se refiere a cualquier formulación farmacéuticamente aceptable, tal como polímeros sintéticos o naturales en forma de complejos macromoleculares, nanocápsulas, microesferas o perlas, y formulaciones basadas en lípidos que incluyen emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas, vesículas de membrana sintéticas y eritrocitos liberados.

En una realización, las formulaciones farmacéuticamente aceptables comprenden una matriz polimérica.

- 50 Los términos "polímero" o "polimérico" se reconocen en la técnica e incluyen un marco estructural compuesto de unidades monoméricas repetidas que es capaz de liberar un compuesto aniónico, de tal forma que tenga lugar el tratamiento de una afección establecida como diana. Los términos también incluyen copolímeros y homopolímeros, por ejemplo, sintéticos o naturales. También se entiende que se incluyen polímeros lineales, polímeros ramificados y

polímeros reticulados.

5 Por ejemplo, los materiales poliméricos adecuados para formar la formulación farmacéuticamente aceptable empleada en la presente invención incluyen polímeros obtenidos de forma natural tales como albúmina, alginato, derivados de celulosa, colágeno, fibrina, gelatina y polisacáridos, así como polímeros sintéticos tales como poliésteres (PLA, PLGA), polietilenglicol, poloxámeros, polianhídridos y pluronicos. Estos polímeros son biocompatibles con el sistema nervioso, incluyendo el sistema nervioso central, son biodegradables dentro del sistema nervioso central sin producir ningún subproducto tóxico de degradación y poseen la capacidad de modificar la manera y duración de liberación de compuestos aniónicos mediante la manipulación de las características cinéticas del polímero. Como se usa en el presente documento, el término "biodegradable" significa que el polímero se degradará a lo largo del tiempo por la acción de enzimas, por acción hidrolítica y/o por otros mecanismos en el cuerpo del sujeto. Como se usa en el presente documento, el término "biocompatible" significa que el polímero es compatible con un tejido vivo o un organismo vivo al no ser tóxico o perjudicial y al no producir un rechazo inmunológico.

15 Los polímeros pueden prepararse usando métodos conocidos en la técnica (Sandler, S. R.; Karo, W. *Polymer Syntheses*; Harcourt Brace: Boston, 1994; Shalaby, W.; Ikada, Y.; Langer, R.; Williams, J. *Polymers of Biological and Biomedical Significance (ACS Symposium Series 540)*; American Chemical Society: Washington, DC, 1994). Los polímeros pueden diseñarse para ser flexibles; puede controlarse la distancia entre las cadenas laterales bioactivas y la longitud de un enlazador entre el esqueleto polimérico y el grupo. En las Patentes de Estados Unidos N° 5.455.044 y 5.576.018, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia, se describen otros polímeros y métodos adecuados para su preparación.

25 Las formulaciones poliméricas preferiblemente se forman por dispersión del compuesto aniónico dentro de un polímero licuado, como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.883.666, cuyas enseñanzas se incorporan en el presente documento como referencia, o por métodos tales como polimerización en masa, polimerización interfacial, polimerización en solución y polimerización de apertura de anillo como se describe en Odian G., *Principles of Polymerization and ring opening polymerization*, 2ª ed., John Wiley & Sons, New York, 1981, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia. Las propiedades y características de las formulaciones se controlan variando parámetros tales como la temperatura de reacción, las concentraciones de polímero y compuesto aniónico, los tipos de disolvente usado y los tiempos de reacción.

30 Además del compuesto aniónico y el polímero farmacéuticamente aceptable, la formulación farmacéuticamente aceptable de la invención puede comprender vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables adicionales. Como se usa en el presente documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye todos y cada uno de los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y de retraso de la absorción y similares que son fisiológicamente compatibles. Por ejemplo, el vehículo puede ser adecuado para inyección en el líquido cefalorraquídeo. Los excipientes incluyen estabilizantes y disgregantes farmacéuticamente aceptables.

35 El compuesto aniónico puede encapsularse en uno o más polímeros farmacéuticamente aceptables, para formar una microcápsula, microesfera o micropartícula, términos usados en el presente documento indistintamente. Las microcápsulas, microesferas y micropartículas son polvos convencionalmente fluidos que consisten en partículas esféricas de 2 milímetros o menos de diámetro, normalmente 500 micrómetros o menos de diámetro. Las partículas menores de 1 micrómetro convencionalmente se denominan nanocápsulas, nanopartículas o nanoesferas. En su mayoría, la diferencia entre una microcápsula y una nanocápsula, una microesfera y una nanoesfera o una micropartícula y una nanopartícula es el tamaño; generalmente hay poca diferencia, si hay alguna, entre la estructura interna de las dos. En un aspecto de la presente invención, el diámetro medio es menor de aproximadamente 45 μm , preferiblemente menor de 20 μm y más preferiblemente está comprendido entre aproximadamente 0,1 y 10 μm .

40 En otra realización, las formulaciones farmacéuticamente aceptables comprenden formulaciones basadas en lípidos. En la práctica de la invención puede usarse cualquiera de los sistemas de liberación de fármaco basados en lípidos conocidos. Por ejemplo, pueden usarse liposomas multivesiculares (MVL), liposomas multilamelares (también conocidos como vesículas multilamelares o "MLV"), liposomas unilamelares, incluyendo liposomas unilamelares pequeños (también conocidos como vesículas unilamelares o "SUV") y liposomas unilamelares grandes (también conocidos como vesículas unilamelares grandes o "LUV"), siempre que pueda establecerse una velocidad de liberación sostenida del compuesto aniónico encapsulado. En una realización, la formulación basada en lípidos puede ser un sistema de liposomas multivesicular. En las Solicitudes PCT con los N° de Serie US96/11642, US94/12957 y US94/04490, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia, se describen métodos para fabricar sistemas de liberación de fármaco de liposomas multivesiculares de liberación controlada.

55 La composición de la vesícula de membrana sintética normalmente es una combinación de fosfolípidos, normalmente en combinación con esteroides, especialmente colesterol. También pueden usarse otros fosfolípidos u

otros lípidos.

Los ejemplos de lípidos útiles en la producción de vesículas de membrana sintéticas incluyen fosfatidilgliceroles, fosfatidilcolinas, fosfatidilserinas, fosfatidiletanolaminas, esfingolípidos, cerebrósidos y gangliósidos. Preferiblemente se usan fosfolípidos que incluyen fosfatidilcolina de huevo, dipalmitoilfosfatidicolina, diestearoilfosfatidilcolina, dioleoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilglicerol y dioleoilfosfatidilglicerol.

Para preparar vesículas basadas en lípidos que contienen un compuesto aniónico, deben considerarse variables tales como la eficacia de la encapsulación del compuesto aniónico, la susceptibilidad del compuesto aniónico, la homogeneidad y tamaño de la población de vesículas resultante, la relación entre compuesto aniónico y lípidos, la permeabilidad, la inestabilidad de la preparación y la aceptabilidad farmacéutica de la formulación (véase Szoka, et al., *Annual Reviews of Biophysics and Bioengineering*, 9: 467, 1980; Deamer, et al., en *Liposomes*, Marcel Dekker, New York, 1983, 27; y Hope, et al., *Chem. Phys. Lipids*, 40: 89, 1986, cuyos contenidos se incorporan en el presente documento como referencia).

Administración de la formulación farmacéuticamente aceptable

En una realización, el compuesto aniónico es adecuado para administrarse por introducción en el sistema nervioso central del sujeto, por ejemplo, en el líquido cefalorraquídeo del sujeto. En ciertos aspectos de la invención, el compuesto aniónico es adecuado para introducirse por vía intratecal, por ejemplo, en un ventrículo cerebral, el área lumbar o la cisterna magna.

Las formulaciones farmacéuticamente aceptables pueden suspenderse fácilmente en vehículos acuosos e introducirse a través de agujas hipodérmicas convencionales o usando bombas de infusión. Antes de la introducción, las formulaciones pueden esterilizarse, preferiblemente, con radiación gamma o esterilización con haces de electrones, descritas en la patente de Estados Unidos nº 436.742, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia.

En otra realización de la invención, la formulación de compuesto aniónico es adecuada para administrarse en un sujeto por vía intratecal. Como se usa en el presente documento, la expresión "administración intratecal" pretende incluir la administración de una formulación de compuesto aniónico directamente en el líquido cefalorraquídeo de un sujeto, por técnicas que incluyen la inyección cerebroventricular lateral a través de una trepanación o punción cisternal o lumbar o similar (descrita en Lazorthes et al. *Advances in Drug Delivery Systems and Applications in Neurosurgery*, 143-192 y Omayá et al., *Cancer Drug Delivery*, 1: 169-179, cuyo contenido se incorpora en el presente documento como referencia). La expresión "región lumbar" pretende incluir el área entre la tercera y la cuarta vértebras lumbares (parte inferior de la espalda). La expresión "cisterna magna" pretende incluir el área en la que termina el cráneo y empieza la médula vertebral en la parte dorsal de la cabeza. La expresión "ventrículo cerebral" pretende incluir las cavidades del cerebro que se continúan con el canal central de la médula espinal. La administración de un compuesto aniónico en cualquiera de los sitios mencionados anteriormente puede conseguirse por inyección directa de la formulación del compuesto aniónico o mediante el uso de bombas de infusión. Para la inyección, la formulación del compuesto aniónico de la invención puede formularse en soluciones líquidas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hank o solución de Ringer. Además, la formulación de compuesto aniónico puede formularse en forma sólida y redisolverse o suspenderse inmediatamente antes del uso. También se incluyen formas liofilizadas. La inyección puede estar, por ejemplo, en forma de una inyección en embolada o infusión continua (por ejemplo, usando bombas de infusión) de la formulación de compuesto aniónico.

Duración y niveles de administración

En otra realización de la invención, la formulación farmacéuticamente aceptable proporciona la liberación sostenida, por ejemplo, "liberación lenta" del compuesto aniónico a un sujeto durante al menos una, dos, tres o cuatro semanas después de administrar la formulación farmacéuticamente aceptable al sujeto.

Como se usa en el presente documento, la expresión "liberación sostenida" pretende incluir la liberación continua de un compuesto aniónico *in vivo* durante un periodo de tiempo después de la administración, preferiblemente al menos varios días, una semana o varias semanas. La liberación sostenida del compuesto aniónico puede demostrarse, por ejemplo, por el efecto terapéutico continuado del compuesto aniónico a lo largo del tiempo (por ejemplo, la liberación sostenida del compuesto aniónico puede demostrarse por la inhibición continuada de la muerte de células neuronales a lo largo del tiempo). Como alternativa, la liberación sostenida del compuesto aniónico puede demostrarse por detección de la presencia del compuesto aniónico *in vivo* a lo largo del tiempo.

En una realización, la formulación farmacéuticamente aceptable proporciona la liberación sostenida del compuesto aniónico a un sujeto durante menos de 30 días después de administrar el compuesto aniónico al sujeto. Por ejemplo, la formulación farmacéuticamente aceptable, por ejemplo, formulación de "liberación lenta", puede proporcionar la liberación sostenida del compuesto aniónico a un sujeto durante una, dos, tres o cuatro semanas después de que se haya administrado al sujeto el compuesto aniónico. Como alternativa, la formulación farmacéuticamente aceptable

puede proporcionar la liberación sostenida del compuesto aniónico a un sujeto durante más de 30 días después de haber administrado el compuesto aniónico al sujeto.

5 La formulación farmacéutica de la invención contiene una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto aniónico. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad eficaz, a dosificaciones y durante periodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado deseado. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto aniónico puede variar de acuerdo con factores tales como el estado patológico, la edad y el peso del sujeto, y la capacidad del compuesto aniónico (solo o en combinación con uno o más agentes distintos) para inducir una respuesta deseada en el sujeto. Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Una cantidad terapéuticamente eficaz también es una en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial del compuesto aniónico se compense por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Un intervalo no limitante para una concentración terapéuticamente eficaz de un compuesto aniónico es de 100 mM a 1 mM. También debe entenderse que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse a lo largo del tiempo de acuerdo con las necesidades individuales y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración del compuesto aniónico y que los intervalos de dosificación expuestos en el presente documento son solamente ejemplares y no pretenden limitar el alcance o la práctica de la invención reivindicada.

10 La invención implica el uso de ácido 3-aminopropanosulfónico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (véase el ejemplo proporcionado más adelante), para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de indicaciones médicas tales como las especificadas en la reivindicación 1 adjunta. De esta manera, en una realización, el medicamento es para uso en un método para inhibir un proceso inflamatorio (por ejemplo, un proceso inflamatorio debido a la presencia de, o activación de macrófagos por, una proteína o péptido amiloidogénico). El método comprende administrar a un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un sujeto que tiene deposición de amiloide) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto aniónico, de tal forma que se inhiba el proceso inflamatorio, por ejemplo, mediante la inhibición de la activación de macrófagos por una proteína o péptido amiloidogénico, tal como A β . El sujeto es un sujeto que padece enfermedad de Alzheimer. El compuesto aniónico es homotaurina (ácido 3-aminopropanosulfónico) o una sal de la misma.

Ejemplo 1 (Ejemplo de Referencia)

30 Se incubaron macrófagos (macrófagos derivados de médula ósea – células RAW) en medio sin suero con fibrillas A β ₁₋₄₀ (A β ₁₋₄₀ es un polipéptido que corresponde a los restos 1-40 de la proteína A β) (concentración final 2,5 μ M) con o sin la presencia de lipopolisacárido (LPS) (0,01 μ g/ml) como coinductor de la activación. Los macrófagos se incubaron durante una noche. Los sobrenadantes se recogieron y se midieron las citocinas inflamatorias TNF α , IL-6 así como el óxido nítrico. El TNF α y la IL-6 se midieron por un ELISA, mientras que el NO se midió por Reactivo de Griess.

35 Los controles negativos consistían en células incubadas con LPS o A β solo. El control positivo consistía en células incubadas con LPS e IFN γ a concentraciones que se sabe que inducen una activación óptima de estas células.

40 Como se muestra en las Figuras 1 y 2, se descubrió que el ácido 3-aminopropanosulfónico (presente en solución como la forma de sal) bloqueaba aproximadamente 60% de la producción de TNF α inducida por A β , mientras que no resultó afectada la producción de IL-6. También se demostró que la producción de NO se inhibía por ácido 3-aminopropanosulfónico, mientras que este compuesto no parecía tener ningún efecto significativo sobre el TNF α y el NO producido por células RAW en presencia de LPS e IFN γ .

Ejemplo 2 (Ejemplo de Referencia)

El siguiente ejemplo demuestra la capacidad de compuestos de la invención para inhibir la activación microglial inducida por A β .

45 Se cebaron células microgliales humanas THP-1 con LPS (lipopolisacárido) (0,25 μ g/ml) y después se incubaron con una preparación 5 μ M de péptido A β fibrilar. La activación se determinó midiendo la cantidad de IL-1 β liberada en el sobrenadante del cultivo celular. La capacidad de un compuesto para bloquear/inhibir el proceso de activación se determinó comparando la cantidad de citocina (en este caso IL-1 β) presente en el sobrenadante cuando las células se incubaban con un compuesto con la obtenida en el sobrenadante de las células de control (incubadas con A β).

50 Cuando las células se trataron con un compuesto sulfonado, en este caso ácido 3-aminopropanosulfónico, se observó una reducción significativa (mostrada en la FIG. 3) en la cantidad de IL-1 β a una concentración de 10⁻⁷ M a 10⁻³ M, que indicaba inhibición de la microglía.

Los expertos en la materia reconocerán, o podrán averiguar sin usar más que la experimentación rutinaria, numerosos equivalentes a los procedimientos específicos descritos en el presente documento. Dichos equivalentes se consideran dentro del alcance de esta invención y se incluyen en las siguientes reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto seleccionado entre ácido 3-aminopropanosulfónico y sales farmacéuticamente aceptables del mismo para uso en la modulación de la activación de macrófagos inducida por A β que conduce a inflamación, toxicidad de células neuronales, muerte de células neuronales o pérdida de células neuronales en sujetos que tienen una afección o enfermedad en la que están presentes proteínas o péptidos amiloidogénicos A β .
- 5 2. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es para uso en forma de una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende complejos macromoleculares, nanocápsulas, microesferas o perlas.
- 10 3. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es para uso en forma de una formulación basada en lípidos seleccionada entre el grupo que consiste en emulsiones de aceite en agua, micelas, micelas mixtas, vesículas de membrana sintéticas y eritrocitos resellados.
4. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es para uso en forma de una formulación farmacéuticamente aceptable que comprende una matriz polimérica.
- 15 5. El compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la matriz polimérica comprende un polímero seleccionado entre albúmina, alginato, derivados de celulosa, colágeno, fibrina, gelatina, polisacáridos, PLA, PLGA, polietilenglicol, poloxámeros, polianhídridos y plurónicos.
6. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se encapsula en uno o más polímeros farmacéuticamente aceptables para formar una microcápsula, microesfera o micropartícula.
- 20 7. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la formulación basada en lípidos comprende una combinación de fosfolípidos y esteroides.
8. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en el que la formulación basada en lípidos comprende un lípido seleccionado entre fosfatidilglicerol, fosfatidilcolinas, fosfatidilserinas, fosfatidiletanolaminas, esfingolípidos, cerebrósidos y gangliósidos, preferiblemente fosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilcolina, diestearoilfosfatidilcolina, dioleoilfosfatidilcolina, dipalmitoilfosfatidilglicerol y dioleoilfosfatidilglicerol.
- 25 9. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está en forma de un medicamento adaptado para administración por introducción en el sistema nervioso central.
10. Compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el que el medicamento está adaptado para administración en un ventrículo cerebral, el área lumbar, la cisterna magna o el líquido cefalorraquídeo.
- 30 11. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto es para uso en forma de una formulación farmacéuticamente aceptable que proporciona la liberación sostenida, donde liberación sostenida significa la liberación continuada de ácido 3-aminopropanosulfónico *in vivo* durante un periodo de al menos una semana.
- 35 12. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el compuesto es para uso en el tratamiento de la toxicidad de células neuronales inducida por A β soluble en sujetos que padecen la enfermedad de Alzheimer.
13. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 11, en el que el compuesto es para uso en el tratamiento de la inflamación en sujetos que padecen la enfermedad de Alzheimer.
- 40 14. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 11, en el que el compuesto es para uso en el tratamiento de la muerte de células neuronales en sujetos que padecen la enfermedad de Alzheimer.
15. El compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores 1 a 11, en el que el compuesto es para uso en el tratamiento de la pérdida de células neuronales en sujetos que padecen la enfermedad de Alzheimer.

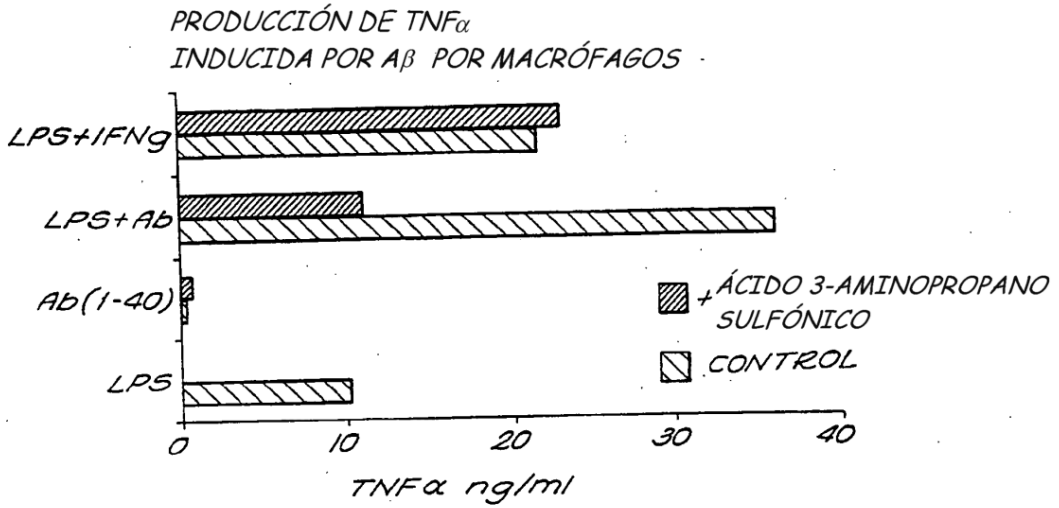


FIG. 1

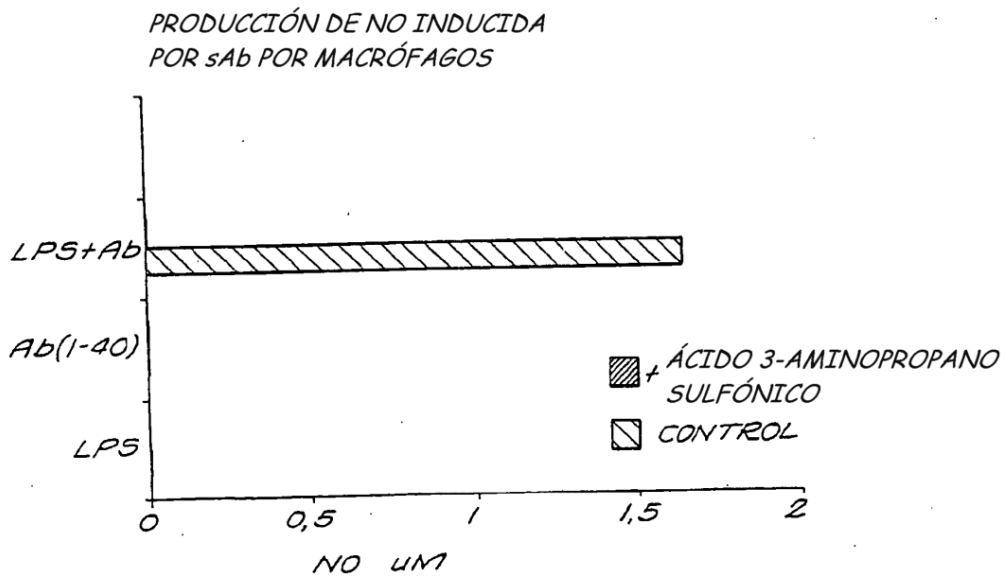


FIG. 2

SECRECIÓN DE IL-1B POR CÉLULAS TH-1 ESTIMULADAS
POR LPS 0,25 μ g/ml Y AB 1-40 5 μ M

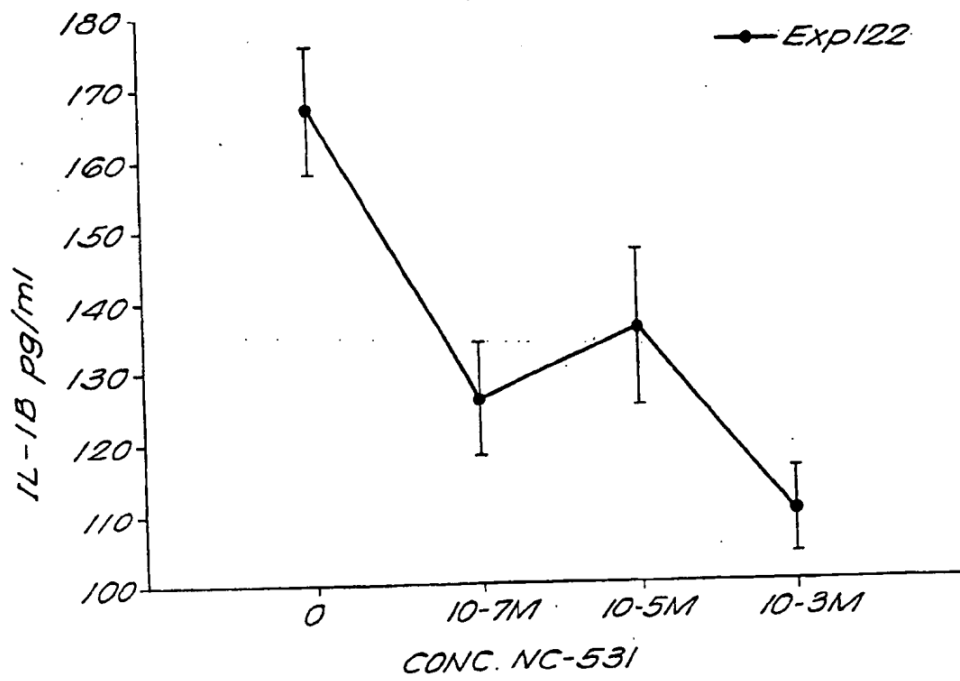


FIG. 3