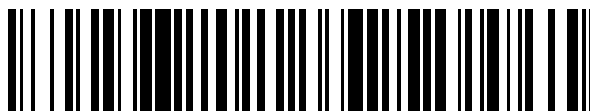


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 404**

51 Int. Cl.:

C07H 21/00 (2006.01)

A61K 31/7088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2009** **E 09798248 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015** **EP 2318424**

54 Título: **Métodos para tratar la esclerosis múltiple usando oligonucleótidos antisentido**

30 Prioridad:

23.06.2008 US 132973 P

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

26.03.2015

73 Titular/es:

ANTISENSE THERAPEUTICS LTD (100.0%)
6 Wallace Avenue
Toorak VIC 3142 , AU

72 Inventor/es:

KLINGER, ETY;
TESSLER, SHOSHI;
HALLAK, HUSSEIN;
TACHAS, GEORGE y
DIAMOND, MARK PAUL

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 532 404 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

Métodos para tratar la esclerosis múltiple usando oligonucleótidos antisentido

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de patente provisional U.S. Serie Nº 61/132.973 presentada el 23 de junio de 2008.

- 5 A lo largo de esta solicitud diversas publicaciones son mencionadas con números árabes entre paréntesis. La citación completa de la referencia correspondiente aparece al final de las especificaciones antes de las reivindicaciones.

Campo y antecedentes de la invención

La presente invención se refiere a métodos para tratar formas recidivantes de la esclerosis múltiple.

10 Esclerosis múltiple

- Esclerosis múltiple (MS) es una enfermedad neurológica común que afecta a más de 1 millón de personas en todo el mundo. Su tasa de prevalencia varía entre razas y latitud geográfica, que varían de más de 100 por 100.000 en Europa del norte y central a 50 por 100.000 en Europa del sur. La MS es la causa más común de discapacidad neurológica en adultos jóvenes y de mediana edad. Típicamente, la enfermedad se hace evidente antes de la edad de 30 en aproximadamente el 50% de los pacientes; en el 25% de los pacientes la aparición de la enfermedad está entre las edades de 30 a 40, y en el 25% aparece la enfermedad entre las edades de 40 a 50. La relación entre mujeres a hombres es de 2:1 (4).

- MS y el daño neurológico resultante tienen un impacto físico, psicológico, social y financiero importante en los pacientes y en sus familias. Los síntomas clínicos más comunes de la MS son paresia, parestesia, deficiencia visual, sexual, intestinal y disfunción urinaria, espasticidad, y falta de coordinación. 40 a 50% de los pacientes sufren de disfunciones cognitivas. El grado de déficit neurológico, la tasa de progresión, y la frecuencia de las recidivas son altamente variable entre los individuos afectados (2-3).

- La mayoría de los pacientes con MS tienen un período de vida normal marcado por numerosos años de discapacidad progresiva grave. Las causas de muerte en los pacientes con MS son infecciones de las vías respiratorias o urinarias, más que la enfermedad misma. Hay varios tipos distintos de MS: esclerosis múltiple recidivante-remitente (RRMS), que se caracteriza por episodios agudos impredecibles de disfunción neurológica (recidivas), seguido por la recuperación variable y períodos de estabilidad clínica. 80% a 85% de los pacientes con MS están diagnosticados con RRMS. Más del 50% de los pacientes que tienen RRMS desarrollan deterioro sostenido con o sin recidivas superpuestas; esta forma se llama MS secundaria progresiva (SPMS). Algunos pacientes con MS que desarrollan un deterioro progresivo desde el principio también pueden desarrollar recidivas posteriormente; esta forma poco frecuente se llama esclerosis múltiple progresiva-recidivante primaria (2-3).

- Aproximadamente el 15% de los pacientes totales con MS desarrollan un deterioro sostenido de su función neurológica desde el principio. Esta forma es conocida como MS progresiva primaria o PPMS. Actualmente, el diagnóstico está de conformidad con los criterios de McDonald (1). El resultado de la evaluación de diagnóstico es "esclerosis múltiple", "MS posible" (para aquellos en riesgo para la MS, pero para los cuales la evaluación diagnóstico es dudosa), o "sin MS" (1). Por último, el término síndrome clínicamente aislado (CIS) se aplica a aquellos pacientes que han sufrido un primer ataque clínico, pero no cumplen con los criterios diagnósticos convencionales para la MS definida. Hoy en día, la presencia de nuevas lesiones en un segundo MRI realizado con al menos tres meses de diferencia es un criterio aceptado para un diagnóstico de MS en estos pacientes. 10%-20% de los pacientes con un síndrome aislado no desarrollará MS.

- La MS es una enfermedad inflamatoria que daña la mielina en el sistema nervioso central (SNC), lo que causa deterioro neurológico y, con frecuencia, discapacidad grave. La etiología de la MS permanece en gran medida desconocida. En general se supone que la MS se desencadena por una combinación de autoinmunidad, infección y predisposición genética (2-3). La respuesta autoinmune contra los componentes de la mielina que procede a través de la activación de los linfocitos T CD4+, la pérdida de una regulación adecuada en los linfocitos Th1/Th2, producción de anticuerpos anti-mielina por los linfocitos B, y posiblemente, la inhibición de linfocitos CD8+ citotóxicos/ supresores es la base de la patogénesis de la MS.

- MS se caracteriza por regiones dispersas de inflamación dentro de la sustancia blanca del SNC, el cerebro y la médula espinal. Los eventos inflamatorios focales finalmente pueden llevar a la desmielinización de las vainas axonales, la degradación del tejido nervioso, y, finalmente, a un daño neurológico irreversible. Aunque el mecanismo exacto por el cual se inicia el proceso de MS permanece en gran medida desconocido, se considera que los antígenos blanco de la respuesta autoinmune en la MS son parte de la mielina del SNC.

- No está claro si los diferentes cursos de la esclerosis múltiple descriptos se deben a los mismos o a diferentes procesos fisiopatológicos. Se considera que las recidivas son la expresión clínica de las lesiones focales inflamatorias agudas mientras que se considera que la progresión refleja la aparición de desmielinización, pérdida

axonal y gliosis. La esclerosis múltiple recidivante remitente y la esclerosis múltiple secundaria progresiva son, probablemente diferentes etapas de la misma enfermedad, mientras que la esclerosis múltiple primaria progresiva puede implicar diferentes procesos.

5 La proteína básica de la mielina (MBP) y proteína proteolipídica (PLP) son los componentes de la mielina más comunes. Adicionalmente, también se conocen constituyentes de mielina menos abundantes, tales como glicoproteínas asociadas a mielina (MAG), **glicoproteína** mielínica oligodendrocitaria (MOG), y cristalina α - β . Existe un considerable debate en curso respecto de la verdadera naturaleza del antígeno blanco en la esclerosis múltiple. En general, parece que el compromiso de diferentes antígenos lleva a ciertas diferencias en los cursos de la enfermedad (5-12).

10 Criterios diagnósticos de esclerosis múltiple basados en MRI

Todos los criterios de diagnóstico para establecer el diagnóstico de la MS propuestos en los últimos 50 años se basan en tres principios fundamentales: (1) demostración de lesiones desmielinizantes diseminadas en el espacio (DIS); (2) demostración de lesiones desmielinizantes diseminadas en el tiempo (DIT); y (3) exclusión razonable de explicaciones alternativas para la presentación clínica (13).

15 *MRI convencional*

Las técnicas convencionales de RMI (cRMI) tales como secuencias potenciadas en T2 y secuencias potenciadas en T1 potenciadas con gadolinio, son altamente sensibles para la detección de placas de MS y pueden proporcionar una evaluación cuantitativa de la actividad inflamatoria y carga de lesiones.

20 Los estudios de MRI en pacientes con esclerosis múltiple recidivante remitente (RRMS) y esclerosis múltiple secundaria progresiva (SPMS), que usan ácido dietilentríaminopentaacético con gadolinio (Gd-DTPA) como agente de contraste, lo que indica la ruptura de la barrera hematoencefálica, han revelado que la actividad de la enfermedad (definida como la presencia de lesiones potenciadas con Gd en MRI potenciado en T1) es de 5 a 10 veces más frecuente que lo que es evidente a partir de los criterios clínicos solos (14).

MRI no convencional

25 Las imágenes potenciadas en T1 sin contraste, mediciones de la atrofia del sistema nervioso central, imágenes de transferencia de magnetización, espectroscopia de resonancia magnética protónica, imágenes de difusión ponderada, e imágenes de resonancia magnética funcional, proporcionan una mejor aproximación del sustrato patológico de las placas de esclerosis múltiple, y han aumentado la comprensión de la patogénesis de la enfermedad, y han demostrado ser útiles para estudiar la historia natural de la esclerosis múltiple y el seguimiento de los efectos de los nuevos tratamientos (13).

30 Estrategias terapéuticas actuales

La gran mayoría de los tratamientos para la esclerosis múltiple son de tipo inmunosupresor o inmunomodulador.

Corticosteroides:

35 Los corticosteroides acortan la duración de una recidiva, pero generalmente no afectan el grado de recuperación. Tienen efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios inespecíficos que disminuyen la permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BBB), reducen el edema y mejoran la conducción axonal. Los corticosteroides se utilizan a menudo para tratar las recidivas clínicamente significativas para una recuperación más rápida. Tienen una actividad anti-inflamatoria aguda que es de corto plazo y no tiene un efecto sobre el curso de la enfermedad a largo plazo.

Interferón Beta:

40 Se han aprobado dos formas de interferón beta recombinante, beta- 1a y beta-1b para el tratamiento de pacientes con RRMS. El mecanismo de su acción en la MS incluye efectos antiproliferativo sobre los linfocitos T; disminución de la expresión de los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de clase II, y otras propiedades inmunorreguladoras. El interferón-beta reduce la tasa de recidivas en aproximadamente 30% de los pacientes con RRMS con discapacidad leve a moderada. La mayor reducción en las lesiones potenciadas con Gd en los escaneos RMI se pudo demostrar con interferón beta-1b, así como la reducción de la progresión de EDSS. El interferón beta se administra como inyección subcutánea (sc) o intramuscular (im) una vez o tres veces por semana, dependiendo de su tipo. Se asocia con varios eventos adversos, que incluyen síntomas tipo gripales, reacciones en el lugar de la inyección, elevación de aminotransferasa sérica, y depresión. Se han informado anticuerpos neutralizantes en 5% a 40% de los pacientes tratados durante tres años y pueden llevar a la disminución de la eficacia.

50 Acetato de glatirámico:

El acetato de glatirámico es un complejo de péptidos sintéticos parecidos a la proteína básica de mielina, que ha mostrado una tasa anual reducida de recidivas de 30% en pacientes con RRMS. El acetato de glatirámico se

administra diariamente por inyección s.c. El efecto secundario más común es la reacción en el lugar de inyección, que se ha descrito hasta en un 90% de los pacientes. Otro efecto secundario poco común es un complejo de reacciones después de la inyección inmediata (IPIRs) que incluyen enrojecimiento, opresión en el pecho, falta de aliento, palpitaciones y ansiedad.

5 *Natalizumab:*

El natalizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado contra la integrina $\alpha 4$, molécula de adhesión celular. El natalizumab se utiliza en el tratamiento de la esclerosis múltiple y la enfermedad de Crohn. Es comercializado por Biogen Idec y Élan como Tysabri, y se denominó previamente Antegren. Natalizumab se administra por infusión intravenosa cada 28 días. Se considera que el fármaco actúa mediante la reducción de la capacidad de las células inmunes inflamatorias para unirse y pasar a través de las capas de células que revisten los intestinos y la barrera hematoencefálica. Se ha demostrado que Natalizumab es eficaz en el tratamiento de los síntomas de ambas enfermedades, prevención de recidivas, pérdida de la visión, deterioro cognitivo y que mejora significativamente la calidad de vida en las personas con esclerosis múltiple, así como aumenta las tasas de remisión y previene la recidiva en la enfermedad de Crohn. Natalizumab fue aprobado en 2004 por la Food and Drug Administration de Estados Unidos. Posteriormente fue retirado del mercado por su fabricante después de haber sido vinculado con tres casos de una enfermedad neurológica rara, leucoencefalopatía multifocal progresiva (PML) cuando se administró en combinación con interferón beta-1a, otro fármaco inmunosupresor de uso frecuente en el tratamiento de la esclerosis múltiple. Después de una revisión de la información de seguridad y ninguna muerte más, el fármaco retornó al mercado de Estados Unidos en 2006 bajo un programa especial de prescripción. En la Unión Europea, se ha aprobado solo para el tratamiento de la esclerosis múltiple.

Teoría antisentido

Los oligonucleótidos antisentido (AS-ONs) son extensiones cortas de nucleótidos o derivados de nucleótidos que son complementarios con una región de ARN específica y pueden suprimir específicamente la expresión y otros aspectos tales como el procesamiento de este transcrito particular. El mecanismo exacto de la acción de los AS-ON no está claro, pero se sabe que es diferente de acuerdo con el tipo de AS-ONs. Generalmente, estas moléculas bloquean la expresión génica mediante la hibridación con el ARNm blanco, lo que produce la posterior formación de doble hélice. Este proceso puede ocurrir en cualquier momento tal como transcripción, iniciación de la traducción, o durante la traducción. Algunos de los posibles mecanismos son ruptura del empalme, transporte de ARNm alterado, interrupción de la traducción de los transcritos, así como disminución de la estabilidad del transcrito de ARNm. En el caso de muchos oligodesoxirribonucleótidos antisentido (AS-ODN), la ARNasa H celular es capaz de unirse al dúplex de ADN-ARN e hidrolizar el ARN, lo que produce la reducción de la cantidad de transcritos y la disminución de la producción de proteína. Las modificaciones en la fracción desoxi en la posición 2' del azúcar generalmente prohíbe el reclutamiento de la ARNasa H y la acción en esa región de un AS-ODN (16).

Los AS-ONs modificados o análogos de AS-ONs a menudo se emplean para aplicaciones antisentido in vivo debido a su mayor estabilidad y resistencia a la nucleasa. Una vida media más larga en suero más larga asegura que el AS-ON tiene tiempo suficiente para alcanzar e interactuar con su ARN blanco en el tejido. Los AS-ODN con esqueletos de fosforotioato son ampliamente utilizados debido a su vida media en suero más larga y el hecho de que son un sustrato de ARNasa H adecuado. Sin embargo, los fosforotioatos muestran una alta afinidad por diversas proteínas celulares, que pueden producir efectos no específicos de secuencia. Muchos AS-ONs con modificaciones 2' del azúcar con grupos tales como O-metilo, fluoro, O-propilo, O-alilo, o muchos otros exhiben mayor estabilidad del dúplex con su ARNm blanco y mayor especificidad pero los efectos antisentido en esta región modificada 2' son usualmente independientes de ARNasa H. Estas modificaciones crean masa en la posición 2', lo que causa impedimento estérico para cumplir un papel significativo en el aumento de la resistencia a la nucleasa. Los análogos de nucleótidos, tales como ácidos nucleicos peptídicos, en general, también son resistentes a la nucleasa y, a menudo demuestran propiedades de hibridación superiores debido a la carga del esqueleto modificada, aunque por lo general no son sustratos aceptables para la ARNasa H (16).

El objetivo tradicional del enfoque antisentido para la terapéutica es disminuir el nivel de proteínas clave en la patogénesis de la enfermedad. El uso de oligonucleótidos antisentido como agentes terapéuticos tiene la ventaja potencial de especificidad mucho mayor en comparación con fármacos de molécula pequeña convencionales. La mayoría de los fármacos actualmente en uso modulan la actividad de proteínas específicas, ya sea mediante la unión directa a la proteína de interés o mediante la unión a otras proteínas, tales como receptores de superficie celular, que posteriormente modulan la proteína blanco. Debido al gran número de proteínas relacionadas, clases de actividad y familias de proteínas que realizan la misma o muy similar función, los fármacos de moléculas pequeñas a menudo se unen a, y afectan la actividad de más de una proteína blanco. Por el contrario, la efectividad de los AS-ONs se basa en el apareamiento de bases altamente específico entre el oligonucleótido y el ARN blanco. En consecuencia, la tecnología antisentido permite dirigirse a un solo miembro de una familia de proteínas estrechamente relacionadas y diseñar agentes terapéuticos que exhiben menos efectos tóxicos no específicos que otros agentes menos selectivos, agentes (17-21).

Integrina VLA-4

Las integrinas son moléculas de adhesión heterodímeras que cumplen papeles clave en la activación, tráfico y señalización de los leucocitos. La integrina VLA-4 se compone de una cadena $\alpha 4$ no covalentemente unida a la subunidad $\beta 1$. Se expresa en la mayoría de los leucocitos, ya sea que produzcan en la sangre periférica, tejido linfático, o en sitios de inflamación en varios órganos. $\alpha 4\beta 1$ se une a VCAM-1 en el endotelio activado y al segmento CS1 de la fibronectina que se encuentra en la matriz extracelular. Estas interacciones son críticas para la migración de leucocitos a través del endotelio y en los tejidos inflamados. La unión del ligando mediante las integrinas $\alpha 4$ tiene diversas consecuencias biológicas. El papel más conocido para $\alpha 4$ es su función como una molécula de adhesión de leucocitos que guía los leucocitos a través del endotelio vascular y en los sitios de inflamación. Los leucocitos son reclutados de la sangre y en los tejidos por un proceso de múltiples etapas que implica una circulación transitoria inicial de las células a lo largo del endotelio vascular, seguido de la adhesión firme y la posterior migración trans- endotelial. La integrina $\alpha 4$ es única entre las moléculas de adhesión ya que puede soportar tanto las etapas de circulación como de adhesión firme (22).

Godfrey, J. et. Al., Drug Discovery Today, vol. 1, no. 2, 2004, 85-91 describe los principales desafíos que enfrenta en la actualidad la validación del blanco. La discusión se centra en la revolución genómica en curso que está generando un número sin precedentes de blancos potenciales. Los autores afirman que las tecnologías existentes, tales como los ratones knockouts, están luchando para proporcionar el rendimiento actualmente requerido. Las herramientas de ácido nucleico que incluyen antisentido, ARN de interferencia, ribozimas y aptámeros se dice que ofrecen un medio de rendimiento potencialmente mayor de manipulación de la expresión génica y de este modo, de validación de los blancos en los sistemas biológicos complejos, tales como el sistema nervioso central.

Rayburn, E. R. et. Al., Drug Discover Today, vol. 13, no. 11-12, 2008, 513-521 describe oligonucleótidos antisentido que pueden regular la expresión génica en las células vivas. Como tal, los autores afirman que regulan la función y división celular, y pueden modular las respuestas celulares antes estreses y estímulos internos y externos. Aunque se han obtenido resultados alentadores de los estudios preclínicos y clínicos y se han logrado avances significativos en el desarrollo de estos agentes como fármacos, aún no son reconocidos como agentes terapéuticos efectivos. Varios obstáculos importantes aún quedan por superar, incluyendo problemas con eficacia, efectos fuera del blanco, administración y efectos secundarios. Las lecciones aprendidas en el desarrollo de fármacos antisentido pueden ayudar en el desarrollo de otros agentes terapéuticos basados en oligonucleótidos tales como oligonucleótidos CpG, ARNi y ARNm.

Corey, D. R., Nature Chemical biology, vol.3, no.1, 2007, 8-11 comenta acerca de la interferencia del ARN que proporciona herramientas poderosas para el control de la expresión génica en células cultivadas. Se desconoce si el ARNi proporcionará medicamentos de potencia similar. Los autores comentan que las lecciones de desarrollo de oligonucleótidos antisentido drogas pueden proporcionar algunas claves.

Tafsch, A. et. Al., Current Medicinal Chemistry, vol. 13, no. 8, 2006, 863-881 discute la capacidad de dirigir ARN, ARNm y ARN viral, en particular, para la degradación es un enfoque poderoso en biología molecular y farmacología. Tales enfoques se pueden usar tanto en el estudio de la función de genes como en la genómica funcional, en la identificación de genes asociados a la enfermedad, y para el tratamiento de enfermedades humanas. Esta revisión proporciona una visión integral actualizada de todas las tecnologías disponibles actualmente usadas para la destrucción de ARN, con foco en su potencial terapéutico. Esto incluye abordajes que usan la actividad de las ribonucleasas proteicas tales como oligonucleótido antisentido, ARN interferente pequeño, secuencia guía externa asociada con ARNasa, onconasa y ARNasa seminal bovina. Los abordajes específicos de secuencia que no utilizan la actividad de las ribonucleasas proteicas, tales como ribozima y ADNzima, también se revisan y discuten. Esta revisión proporciona un marco de partida útil para los investigadores interesados en el uso de las metodologías de destrucción del ARN en el laboratorio y en la clínica, y sirve como un estímulo para el desarrollo adicional de nuevas y más potentes las tecnologías de degradación del ARN.

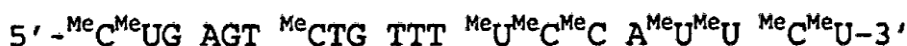
Coisne, C. et. Al., Inflammation and allergy drug targets, vol. 6, no. 4, 2007, 210-222 describe el sistema nervioso central (SNC), lo que sugiere que durante mucho tiempo ha sido considerada como un órgano privilegiado inmunitario lo que implica que el sistema inmunológico evita el SNC para no perturbar la homeostasis, lo cual es crítico para la función apropiada de las neuronas. Ellos sugieren que se acepta que las células inmunes actúan al acceder al SNC y que las respuestas inmunitarias se montan dentro de este tejido. Sin embargo, los autores sugieren que el microambiente único del SNC controla estrictamente estas reacciones inmunitarias comenzando con la regulación estricta de la entrada de células inmunitarias al tejido. La barrera hematoencefálica (BBB) endotelial y la barrera del líquido cefalorraquídeo-sangre epitelial (CFS) controlan la entrada de las células inmunitarias en el SNC, lo que es raro en condiciones fisiológicas. Durante una variedad de afecciones patológicas del SNC tales como las infecciones virales o bacterianas o durante enfermedades inflamatorias tales como la esclerosis múltiple, los autores sugieren que las células inmunocompetentes atraviesan fácilmente la barrera BBB y entran en el SNC.

Myers, K. J. et. Al., Journal of Neuroimmunology, vol.160, no. 1-2. 2005, 12-24 discute el uso de un oligonucleótido antisentido (ASO) específico para el ARNm de la cadena alfa (CD49d) de VLA-4 de ratón para regular por disminución la expresión de VLA-4 y alterar la inflamación del sistema nervioso central (SNC). ISIS 17044 redujo de forma potente y específica el ARNm y la proteína de CD49d en las líneas celulares y en células T de ratón primarias

tratadas ex vivo. Cuando se administra profiláctica o terapéuticamente, ISIS 17044 redujo la incidencia y la gravedad de los síntomas de parálisis en un modelo de encefalomiélitis autoinmune experimental (EAE). Esto fue acompañado por una disminución significativa en el número células VLA-4+, células T CD4+ y macrófagos presentes en la materia blanca de la médula espinal de los ratones EAE. Se halló que ISIS 17044 se acumula en el tejido linfoide de los ratones, y el oligonucleótido también se detectó en las células endoteliales y células tipo macrófagos en el SNC, aparentemente debido a la ruptura de la barrera hemaotencéfálica durante la EAE. Los autores sugieren que estos resultados demuestran la utilidad potencial de los oligonucleótidos antisentido administrados por vía sistémica para el tratamiento de la inflamación del sistema nervioso central.

Sumario de la invención

- 10 Esta descripción proporciona un procedimiento para tratar un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano, una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



- 15 en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

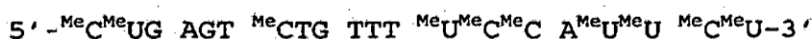
- 20 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para tratar de este modo el sujeto humano.

- 25 Esta descripción también proporciona un procedimiento para inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas en un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple detectable por MRI, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



- 30 en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster de fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

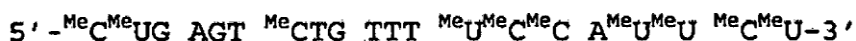
- 35 los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para de este modo inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas en el sujeto humano detectables por MRI.

- 40 Esta descripción proporciona adicionalmente un procedimiento para inhibir un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio de un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple detectable por MRI, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:
- 45



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

5 los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

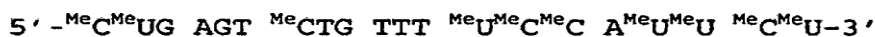
los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio detectables por imágenes MRI.

Esta descripción también proporciona un procedimiento para reducir el nivel de VLA-4 en la sangre de un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

20 los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

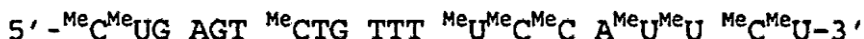
los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

25 todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para reducir de este modo el nivel de VLA-4 en la sangre del sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple.

30 Esta descripción también proporciona un procedimiento para la inhibición de la progresión de la discapacidad en un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente a un sujeto humano afectado con esclerosis múltiple una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

35 cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

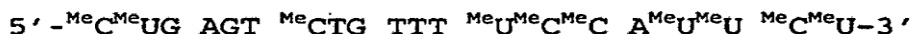
40 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo la progresión de la discapacidad en el sujeto humano.

Esta descripción también proporciona un procedimiento para reducir la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con una forma recidivante de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

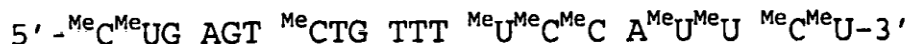
los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (Me^{C}),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para reducir de este modo la tasa de recidiva en el sujeto humano afectado con la forma recidivante de la esclerosis múltiple.

Esta descripción proporciona un procedimiento para inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con una forma recidivante de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

a) cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

b) los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

c) los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

d) los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

e) todas las citosinas son 5-metilcitosinas (Me^{C}),

una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio y reduce la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con la forma recidivante de la esclerosis múltiple.

Breve descripción de las Figuras

Figura 1:

(A, B y C) Ilustra el número acumulativo de nuevas lesiones activas medidas por MRI en el cerebro de pacientes con RRMS en las semanas 4, 8 y 12, tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 en comparación con el placebo. (C) El OLIGONUCLEÓTIDO 1 reduce el número de lesiones activas en 54,4%, $p=0,01$.

Figura 2:

(A y B) Ilustra el número acumulativo de nuevas lesiones activas medidas por MRI en el cerebro de pacientes con RRMS en las semanas 8 y 12, tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 en comparación con el placebo.

Figura 3:

(A, B y C) Ilustra el número acumulativo de lesiones T1 potenciadas con gadolinio medidas por MRI en el cerebro de pacientes con RRMS en las semanas 4, 8 y 12, tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 o que reciben placebo. (C) El OLIGONUCLEÓTIDO 1 reduce el número acumulativo de lesiones T1 potenciadas con gadolinio en 66,7%, $p=0,002$.

5 Figura 4:

(A y B) Ilustra el número acumulativo de lesiones T1 potenciadas con gadolinio medidas por MRI en el cerebro de pacientes con RRMS en las semanas 8 y 12, tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 o que reciben placebo.

Figura 5:

10 (A y B) Ilustra el número acumulativo de lesiones T2 nuevas o recientemente agrandadas por MRI en el cerebro de pacientes con RRMS en las semanas 4, 8 y 12, tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 o que reciben placebo.

Figura 6:

(A y B) Ilustra la proporción de sujetos libres de lesión potenciada con gadolinio en las semanas 8 y 12 entre los pacientes con RRMS tratados con OLIGONUCLEÓTIDO 1 en comparación con el placebo.

Figura 7:

15 Ilustra la tendencia a la reducción del volumen lesión potenciada en T1 con gadolinio en el cerebro de pacientes con RRMS con el tiempo en el grupo de tratamiento en comparación con el placebo.

Figura 8:

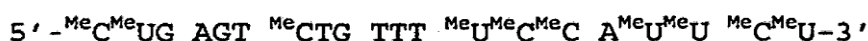
Ilustra el número de nuevas lesiones activas con el tiempo en el grupo de tratamiento en comparación con el placebo.

20 Figura 9:

Datos farmacocinéticos. Los perfiles medios del OLIGONUCLEÓTIDO 1 no muestran indicación de niveles de exposición plasmática del pico de acumulación o totales desde el Día 1 a la Semana 8.

Descripción detallada de la descripción

25 Esta descripción proporciona un procedimiento para tratar un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

30 cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

35 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (MeC),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,'

para tratar de este modo al sujeto humano.

En una realización del procedimiento, la administración inhibe la progresión de la discapacidad en el sujeto humano.

40 En otra realización del procedimiento, la progresión de la discapacidad se reduce en 15%-70% medida por la puntuación EDSS con respecto a la progresión de la discapacidad en los sujetos humanos afectados con la forma de esclerosis múltiple no tratados de este modo.

En una realización del procedimiento, la administración inhibe la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas

en el sujeto humano detectables por MRI.

En una realización del procedimiento, el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI es menor en 25%-80% que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple no tratado con la composición farmacéutica.

5 En una realización del procedimiento, el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI es menor en 50%-65% después de 8 semanas de tratamiento que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con esclerosis múltiple no tratado de este modo con la composición farmacéutica. En una realización del procedimiento, la administración periódica es tres veces por semana.

10 En una realización, la administración inhibe un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio del sujeto humano detectables por MRI.

En una realización adicional, la administración produce una disminución en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio del sujeto humano detectables por MRI.

15 En otra realización, el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio del sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple es 25%-80% menor que el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio de un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple no tratado con la composición farmacéutica, en el que las lesiones son detectables por MRI.

En una realización adicional, el procedimiento MRI se selecciona del grupo que consiste en escaneado potenciado en T2, escaneado potenciado en T1 precontraste, y escaneado potenciado en T1 pos-gadolinio.

20 En una realización, la administración periódica es dos veces por semana.

En otra realización, la administración periódica es una vez por semana.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada dos semanas.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada tres semanas.

En otra realización, la administración periódica es una vez cada cuatro semanas.

25 En aún otra realización, la administración periódica es una vez por mes.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez por dos meses.

En una realización de esta descripción, la cantidad terapéuticamente efectiva es 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 o 1600 mg.

En una realización del procedimiento, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 50-400 mg.

30 En una realización adicional, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez por semana, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada dos semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto es 200 mg.

35 En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada cuatro semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 400 mg.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 50.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

40 En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 100.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 150.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización adicional del procedimiento, la administración es efectiva para proporcionar una C_{max} del oligonucleótido en el plasma del sujeto humano de 10.000-11.000 ng/ml.

45 En una realización del procedimiento, la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea.

En otra realización, el oligonucleótido está en la forma de una sal de sodio.

En una realización adicional, el oligonucleótido está en la forma de una sal de potasio:

En aún otra realización, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,2-7,6. En una realización adicional, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,4.

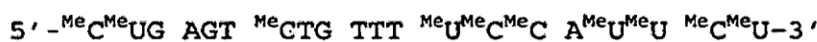
En una realización del procedimiento, la forma de esclerosis múltiple es una forma recidivante de esclerosis múltiple.

En una realización adicional, la forma de esclerosis múltiple es esclerosis múltiple recidivante remitente.

En una realización adicional, la forma de esclerosis múltiple incluye y OLIGONUCLEÓTIDO 1 trata al menos uno de los siguientes síntomas: la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, el aumento del volumen de las lesiones potenciadas con gadolinio, discapacidad progresiva, el aumento de la tasa de recidiva, neuritis óptica, visión borrosa, diplopía, movimientos involuntarios rápidos de los ojos, ceguera, pérdida del equilibrio, temblores, ataxia, vértigo, la torpeza de un miembro, falta de coordinación, debilidad de una o más extremidades, tono muscular alterado, rigidez muscular, espasmos, hormigueo, parestesias, sensación de ardor, dolores musculares, dolor facial, neuralgia del trigémino, dolores punzantes agudos, dolor con hormigueo y ardor, lentificación del lenguaje, dificultades en el habla, cambios en el ritmo del habla, disfagia, fatiga, problemas de vejiga (que incluyen urgencia, frecuencia, vaciado incompleto e incontinencia), problemas intestinales (que incluyen constipación y pérdida del control intestinal), impotencia, excitación sexual disminuida, pérdida de la sensibilidad, sensibilidad al calor, pérdida de la memoria a corto plazo, pérdida de concentración, o pérdida de juicio o razonamiento.

En otra realización, la administración reduce la tasa de recidiva en el sujeto humano.

Esta descripción además proporciona un procedimiento para reducir la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con una forma recidivante de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

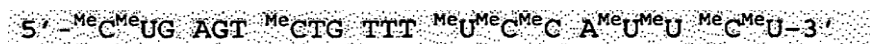
los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (Me^{C}),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para reducir de este modo la tasa de recidiva en el sujeto humano afectado con la forma recidivante de la esclerosis múltiple.

La invención proporciona un procedimiento para inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en un sujeto afectado con una forma recidivante de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5'son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo; y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (^{Me}C),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido

- 5 para inhibir de este modo la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en un sujeto afectado con una forma recidivante de esclerosis múltiple.

En otra realización del procedimiento, el procedimiento la inhibición de la progresión de la discapacidad en el sujeto humano

- 10 En otra realización del procedimiento, la progresión de la discapacidad se reduce en 15%-70% medida por la puntuación EDSS con respecto a la progresión de la discapacidad en sujeto humanos afectados con la forma de esclerosis múltiple no tratada de este modo.

En una realización del procedimiento, la forma recidivante de esclerosis múltiple es esclerosis múltiple recidivante remitente.

- 15 En otra realización, la tasa de recidiva se reduce en más de 30% con respecto a la tasa de recidiva de pacientes no tratados de este modo.

En una realización del procedimiento, el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI es menor es 25%-80% que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple no tratado con la composición farmacéutica.

- 20 En una realización del procedimiento, el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI es menor en 50%-65% después de 8 semanas de tratamiento que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con esclerosis múltiple no tratado de este modo con la composición farmacéutica.

- 25 En otra realización, el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio del sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple es 25%-80% menor que el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio de un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple no tratado con la composición farmacéutica, en el que las lesiones son detectables por MRI.

En una realización adicional, el procedimiento MRI se selecciona del grupo que consiste en escaneado potenciado en T2, escaneado potenciado en T1 precontraste, y escaneado potenciado en T1 pos-gadolinio.

- 30 En una realización, la administración periódica es dos veces por semana.

En otra realización, la administración periódica es una vez por semana.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada dos semanas.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada tres semanas.

En otra realización, la administración periódica es una vez cada cuatro semanas.

- 35 En aún otra realización, la administración periódica es una vez por mes.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez por dos meses.

En una realización de esta invención, la cantidad terapéuticamente efectiva es 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 o 1600 mg.

En una realización de esta invención, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 50-400 mg.

- 40 En una realización adicional, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez por semana, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada dos semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

- 45 En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada cuatro semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 400 mg.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 50.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 100.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

- 5 En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 150.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización adicional del procedimiento, la administración es efectiva para proporcionar una C_{max} del oligonucleótido en el plasma del sujeto humano de 10.000-11.000 ng/ml.

En una realización del procedimiento, la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea.

- 10 En otra realización, el oligonucleótido está en la forma de una sal de sodio.

En una realización adicional, el oligonucleótido está en la forma de una sal de potasio.

En aún otra realización, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,2-7,6. En una realización adicional, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,4.

- 15 En otra realización, la composición farmacéutica se administra como monoterapia.

En una realización adicional, la composición farmacéutica se administra en forma simultánea o secuencial con al menos un agente terapéutico adicional.

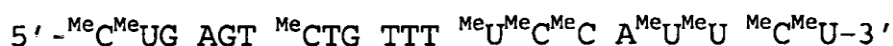
En una realización, el agente terapéutico adicional es un corticosteroide, interferón beta-1a, interferón beta-1b, acetato de glatirámico o natalizumab.

- 20 En aún otra realización, el agente terapéutico adicional es un corticosteroide.

En una realización adicional, el agente terapéutico adicional es acetato de glatirámico.

Esta descripción además proporciona un procedimiento para reducir el nivel de VLA-4 en la sangre de un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:

- 25



en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

- 30 los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

todas las citosinas son 5-metilcitosinas (Me^{C}),

- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para reducir de este modo el nivel de VLA-4 en la sangre del sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple.

- 40 En una realización del procedimiento, el nivel de VLA-4 en la sangre del sujeto humano se reduce en más de 15% respecto a un sujeto humano no tratado de este modo. En una realización adicional el nivel de VLA-4 en la sangre del sujeto humano se reduce en 10%-90% con respecto a un sujeto humano no tratado de este modo. El nivel de reducción de VLA-4 en estas realizaciones puede ser por ejemplo, reducción de ARNm, VL-4 proteína o superficie celular. Además, este nivel de reducción puede ser en uno o algunos subconjuntos de leucocitos en la sangre.

En una realización de esta descripción la administración periódica es tres veces por semana:

En una realización, la administración periódica es dos veces por semana.

En otra realización, la administración periódica es una vez por semana.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada dos semanas.

En una realización adicional, la administración periódica es una vez cada tres semanas.

En aún otra realización, la administración periódica es una vez por mes.

- 5 En una realización adicional, la administración periódica es una vez por dos meses.

En una realización del procedimiento, la cantidad terapéuticamente efectiva es 200, 400, 600, 800, 1000, 1200, 1400 o 1600 mg.

En una realización del procedimiento, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 50-400 mg.

En una realización adicional, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

- 10 En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez por semana, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg,

En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada dos semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 200 mg.

- 15 En una realización del procedimiento para la administración periódica una vez cada cuatro semanas, la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano es 400 mg.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 50.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 100.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

- 20 En una realización del procedimiento, el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior a 150.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.

En una realización adicional del procedimiento, la administración es efectiva para proporcionar una C_{max} del oligonucleótido en el plasma del sujeto humano de 10.000-11.000 ng/ml.

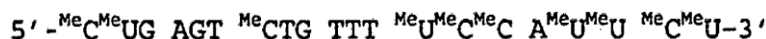
En una realización del procedimiento, la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea.

- 25 En otra realización, el oligonucleótido está en la forma de una sal de sodio.

En una realización adicional, el oligonucleótido está en la forma de una sal de potasio.

En aún otra realización, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,2-7,6. En una realización adicional, el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,4.

- 30 Esta descripción también proporciona un procedimiento para inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas en un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple detectables por MRI, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



- 35 en la que

cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;

los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

- 40 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

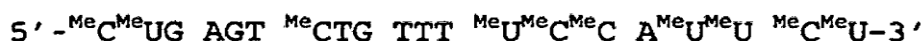
todas las citosinas son 5-metilcitosinas (MeC),

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas en el sujeto humano detectables por MRI.

Esta descripción proporciona adicionalmente a procedimiento para inhibir

- 5 Un aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio de un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple detectable por MRI, que comprende administrar periódicamente al sujeto humano una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:

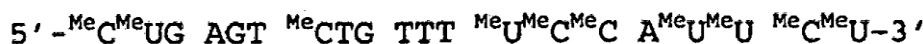


en la que

- 10 cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;
los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);
los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;
15 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y
todas las citosinas son 5-metilcitosinas ($\text{Me}^{\text{Me}}\text{C}$),
o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo un aumento en el volumen de lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio detectables por imágenes MRI.

- 20 Esta descripción también proporciona un procedimiento para la inhibición de la progresión de la discapacidad en un sujeto humano afectado con una forma de esclerosis múltiple, que comprende administrar periódicamente a un sujeto humano afectado con esclerosis múltiple una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



- 25 en la que

- cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster fosforotioato ligado a O,O;
los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);
los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;
30 los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y
todas las citosinas son 5-metilcitosinas ($\text{Me}^{\text{Me}}\text{C}$),
o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

para inhibir de este modo la progresión de la discapacidad en el sujeto humano.

- 35 Como se usa en la presente, un "agente terapéutico adicional" es cualquier agente útil para tratar la esclerosis múltiple diferente del OLIGONUCLEÓTIDO 1.

- Dentro de cualquier intervalo listado en este documento, todos los números enteros, y decimales, que incluyen porcentajes enteros para porcentajes, están contemplados como realizaciones de esta descripción. Por ejemplo, la descripción proporciona que la cantidad efectiva para tratar el sujeto humano puede ser 50-400 mg; mediante esta
40 citación la descripción contempla y describe todas las cantidades en mg decimales y enteras tales como 51,1 51,2 ... 399,8, 399,9; 51, 52 ... 398, 399 mg como realizaciones de esta descripción. Del mismo modo, mediante otro ejemplo, la descripción proporciona que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por imagen de MRI es menor en 25-80% que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por imagen MRI en un sujeto humano afectado con esclerosis múltiple no tratado con la composición farmacéutica; mediante esta citación
45 la descripción contempla y describe todas las cantidades en % enteras tales como 26%, 27%, 28% ... 78% y 79% como realizaciones de esta descripción. De modo análogo esto es válido para cada intervalo descrito en esta

solicitud.

Una sal farmacéuticamente aceptable como se usa en la presente se refiere a cualquier forma de sal del oligonucleótido del gapmer 3-9-8 MOE descrito en la presente que es apropiado para administrar a un sujeto humano. En particular, se puede usar una sal de potasio o una sal de sodio como se ejemplifica en la presente.

5 Definiciones

Escala expandida del estado de discapacidad de Kurtzke (EDSS).

La Escala expandida del estado de discapacidad de Kurtzke (EDSS) es un procedimiento de cuantificación de la discapacidad en la esclerosis múltiple. La EDSS reemplazó las escalas de estado de discapacidad anteriores que usaban grupos de personas con MS en los paréntesis inferiores. La EDSS cuantifica la discapacidad en ocho sistemas funcionales (FS) y permite a los neurólogos asignar una puntuación del sistema funcional (FSS) en cada uno de estos. Los sistemas funcionales son: piramidal, cerebelar, tronco cerebral, sensorial, intestino y vejiga, visual y cerebral (de acuerdo con www.mult-sclerosis.org/expandeddisabilitystatusscale).

Escala funcional compuesta de esclerosis múltiple (MSFC):

La escala funcional compuesta de esclerosis múltiple (MSFC) es instrumento de evaluación, cuantitativo, estandarizado de tres partes para su uso en estudios clínicos, particularmente ensayos clínicos de la esclerosis múltiple (23). El MSFC se diseñó para cumplir con tres criterios: multidimensionales para reflejar la expresión clínica variada de la SM a través de los pacientes y con el tiempo, las dimensiones deben cambiar en forma relativamente independiente con el tiempo, y un componente debe ser una medida de la función cognitiva. Los tres componentes del MSFC miden la función/ambulación de la pierna, función del brazo/mano, y la función cognitiva. MSFC mide la discapacidad en los pacientes con MS; y se utiliza para evaluar la eficacia de los regímenes de tratamiento experimentales o nuevos. MSFC consiste en varios elementos diseñados para medir la discapacidad del brazo, pierna y cognitiva e incluye una caminata programada de 25 pies para medir la movilidad de la pierna, una prueba de clavijas de nueve orificios para medir la función del brazo, y una Prueba de la adición auditiva consecutiva ritmada para medir la función cognitiva. (de acuerdo con: www.nationalmssociety.org/searchresults/index.aspx?pageindex=0&keywords=msfc).

Contraste de imagen en MRI:

Las constantes de tiempo están involucradas en los procesos de relajación que establecen el equilibrio después de la excitación de radiofrecuencia. A medida que los núcleos de alta energía se relajan y realinean emiten energía a tasas que se registran para proporcionar información acerca del material en que están. El realineamiento de los espines nucleares con el campo magnético se denomina relajación longitudinal y el tiempo requerido para un determinado porcentaje de los núcleos del tejido para realinear se denomina "Tiempo 1" o T1 (tiempo de relajación de la redícula-spin), que es típicamente de aproximadamente 1 segundo a una intensidad de campo principal 1,5 tesla. La imagen potenciada en T2 se basa en el desfase local de los espines después de la aplicación del pulso de energía transversal; el tiempo de relajación transversal se denomina "Tiempo 2" o T2 (tiempo de relajación espín-espín), normalmente <100 ms para el tejido en la intensidad de campo principal 1,5 tesla.

El contraste de la imagen se crea mediante el uso de una selección de los parámetros de adquisición de imagen que pondera la señal de T1 o T2. En el cerebro, la ponderación de T1 produce que las conexiones nerviosas de la materia blanca aparezcan de color blanco, y las congregaciones de las neuronas de la materia gris que aparezca gris, mientras que el líquido cefalorraquídeo aparece oscuro. El contraste de la "materia blanca", "materia gris" y "líquido cefalorraquídeo" se invierte utilizando imágenes de T2.

Como se usa en la presente, el término MRI se refiere a MRI convencional o no convencional.

Lesiones potenciadas con Gd:

El término "lesiones potenciadas con Gd" se refiere a lesiones que resultan de una ruptura de la barrera hematoencefálica, que aparecen en los estudios de contraste usando agentes de contraste de gadolinio. La potenciación con gadolinio proporciona información acerca de la edad de una lesión, ya que las lesiones potenciadas con Gd típicamente aparecen dentro de un período de seis semanas de formación de la lesión.

Imagen MRI potenciada en T1:

El término "imagen MRI potenciada en T1" se refiere a una imagen de MR que destaca el contraste T1 por el cual se pueden visualizar las lesiones. Las áreas anormales en una imagen potenciada T1-RM son "hipointensas" y aparecen como puntos oscuros. Estas manchas son generalmente lesiones más viejas.

Imagen MRI potenciada en T2:

El término "imagen MRI potenciada en T2" se refiere a una imagen de MR que destaca el contraste T2 por el cual se pueden visualizar las lesiones. Las lesiones T2 representan una nueva actividad inflamatoria. La hiperintensidad T2 refleja una variedad de cambios patológicos de inflamación aguda a la pérdida axonal irreversible.

5 Recidivas:

Las recidivas se caracterizan por la aparición de síntomas de disfunción neurológica, que aparecen después de un período de 30 días de estabilidad o mejora y duran más de 24 horas (sin infección, sin fiebre). El número de recidivas se analiza mediante un modelo de regresión logística que controla el tratamiento y la edad.

10 "Tasa de recidiva" es el número de recidivas confirmadas por unidad de tiempo. "Tasa anual de recidivas" es el valor medio del número de recidivas confirmadas por cada paciente multiplicado por 365 y dividido por el número de días con el fármaco de estudio por cada paciente.

Progresión de la discapacidad:

15 La progresión de la discapacidad se evalúa por medio de escalas válidas, sensibles y confiables tales como EDSS y MSFC. La progresión de la discapacidad se mide como el logro de un grado de discapacidad especificado o de un empeoramiento sostenido de magnitud relevante (1 punto cuando las puntuaciones de EDSS $\leq$ 5,5; 0,5 puntos si la puntuación inicial es $>$ 5,5). Alternativamente, se puede medir como el tiempo para alcanzar la progresión o la proporción de individuos que han mostrado la progresión en el tiempo pre-especificado. Como parámetro de soporte, la discapacidad también se puede expresar por las medidas resumidas obtenidas de mediciones seriadas en las visitas programadas, lo que indica el grado de discapacidad experimentada por el paciente durante un período de tiempo, con independencia de si está en relación o no con las recaídas.

OLIGONUCLEÓTIDO 1:

25 El OLIGONUCLEÓTIDO 1 El oligonucleótido 1 es un oligonucleótido gap-mer quimérico modificado con 2'-MOE con esqueleto de fosforotioato de segunda generación diseñado para hibridar con la región no traducida 3' del ARNm del antígeno 4 de activación muy tardía humana (ARNm de VLA-4), también conocido como ARNm de CD49d, que codifica la subunidad alfa-4 de VLA-4.

VLA-4 también se conoce como integrina alfa-4 (alfa4 beta1). El OLIGONUCLEÓTIDO 1 inhibe selectivamente la expresión de VLA-4 en las células humanas primarias y en varias líneas celulares humanas mediante la hibridación con el ARNm que codifica CD49, que es la subunidad α 4 de VLA-4.

30 El OLIGONUCLEÓTIDO 1 es la sal de sodio-19 de un oligonucleótido 3'-5'-fosforotioato de 20-mer también denominado como un gapmer 3-9-8 MOE que tiene un peso molecular de 7.230 Daltons, en el que los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 desde el extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo) (2'-O-(2-metoxietil ribosa); los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 de el extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos, en los cuales todas las citosinas son 5-metilcitosinas; los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo).

35 La secuencia de secuencias de OLIGONUCLEÓTIDO 1 (SEQ ID: 1) es:

5' - ^{Me}C^{Me}UG AGT ^{Me}CTG TTT ^{Me}U^{Me}C^{Me}C A^{Me}U^{Me}U ^{Me}C^{Me}U-3' .

La fórmula empírica de secuencias de OLIGONUCLEÓTIDO 1 es:

C₂₃₃H₃₂₇N₆₀O₁₂₉P₁₉S₁₉Na₁₉ .

40 El OLIGONUCLEÓTIDO 1 se puede sintetizar por un proceso de múltiples etapas que se puede dividir en dos operaciones distintas: síntesis en fase sólida y procesamiento corriente abajo. En la primera operación, la secuencia de nucleótidos del OLIGONUCLEÓTIDO 1 se ensambla mediante un sintetizador de fase sólida controlado por ordenador. El procesamiento corriente abajo posterior incluye las etapas de desprotección, purificación cromatográfica de fase inversa (RP) preparativa, aislamiento y secado para producir el principio activo del OLIGONUCLEÓTIDO 1. La síntesis química del OLIGONUCLEÓTIDO 1 utiliza la química de acoplamiento de fosforamidita seguido por sulfuración oxidativa e involucra el acoplamiento secuencial de monómeros activados a un oligómero de alargamiento, cuyo extremo terminal 3' está unido covalentemente al soporte sólido.

Detritilación (reacción a)

50 Cada ciclo de la síntesis en fase sólida comienza con la eliminación del grupo protector 5'-O-4,4'-dimetoxitritilo (DMT) lábil al ácido del nucleósido 5' terminal del oligonucleótido unido al soporte. Esto se logra mediante el tratamiento con una solución ácida (por ejemplo ácido dicloroacético (DCA) en tolueno). Después de la detritilación,

el exceso de reactivo se elimina del soporte mediante el lavado con acetonitrilo en preparación para la siguiente reacción.

Acoplamiento (reacción b)

5 La elongación de la cadena se logra mediante la reacción del grupo 5'-hidroxilo del oligonucleótido unido al soporte con una solución de la fosforamidita correspondiente a la posición de la base particular (por ejemplo, para B₂: MOE-MeC amidita) en presencia de un activador (por ejemplo, 1H-tetrazol). Esto produce la formación de una unión de fosfito triéster entre el sintón nucleótido entrante y la cadena de oligonucleótido unido al soporte. Después de la reacción de acoplamiento se elimina el exceso de reactivo del soporte mediante el lavado con acetonitrilo en preparación para la siguiente reacción.

10 Sulfuración (reacción c)

La unión triéster fosfito recién formada se convierte en el correspondiente (O,O,O)-trialquil fosforotioato triéster por tratamiento con una solución de un reactivo de transferencia de azufre (por ejemplo, disulfuro de fenilacetilo). Después de la sulfuración, el exceso de reactivo se retira del soporte mediante lavado con acetonitrilo en preparación para la siguiente reacción.

15 Bloqueo (reacción d)

Una pequeña proporción de los grupos 5'-hidroxilo disponibles en cualquier ciclo dado no se pueden extender. El acoplamiento de estos grupos en cualquiera de los ciclos subsiguientes puede producir la formación de impurezas relacionadas con el proceso ('DMT-on (n-1)-mers'), que son difíciles de separar del producto deseado. Para evitar la formación de estas impurezas y facilitar la purificación, se introduce un "reactivo de bloqueo" (por ejemplo, anhídrido acético y N-etilimidazol/acetonitrilo/piridina) en el recipiente del reactor para dar secuencias bloqueadas. Las secuencias falladas resultantes ('shortmers DMT-off') se separan del producto deseado mediante purificación por HPLC de fase inversa. Después de la reacción de bloque se elimina el exceso de reactivo del soporte mediante el lavado con acetonitrilo en preparación de la siguiente reacción.

25 La reiteración de este ciclo básico de cuatro etapas utilizando nucleósido fosforamidita protegido apropiado permite el ensamblaje de la secuencia entera del OLIGONUCLEÓTIDO 1 protegido,

Desprotección del esqueleto (reacción e)

Después de la finalización de la parte de ensamblaje del proceso, los grupos cianoetilo que protegen las uniones internucleotídicas de (O,O,O)-trialquil fosforotioato triéster se eliminan por tratamiento con una solución de trietilamina (TEA) en acetonitrilo. El reactivo y acrilonitrilo generado durante esta etapa se eliminan mediante el lavado de la columna con acetonitrilo.

Escisión del soporte desprotección de la base (reacción f)

35 La desprotección de los grupos amino exocíclicos y la escisión del producto bruto del soporte se obtiene por la incubación con hidróxido de amonio acuoso (reacción f). La purificación del producto 5'-O-DMT protegido bruto se lleva a cabo por cromatografía líquida de alta presión de fase inversa (RP-HPLC). La etapa de RP-HPLC elimina las secuencias falladas DMT-off. El perfil de elución se controla por espectroscopía de absorción UV. Se recolectan las fracciones que contienen el producto OLIGONUCLEÓTIDO 1 DMT-on y se analizan.

Desprotección ácida (reacción g)

40 Fracciones de RP-HPLC que contienen el OLIGONUCLEÓTIDO 1 5'-O-DMT protegido se mezclan y se transfieren a un tanque de precipitación. Los productos obtenidos a partir de la purificación de varias síntesis se combinan en esta etapa del proceso. El OLIGONUCLEÓTIDO 1 DMT-on purificado se trata con ácido (por ejemplo, ácido acético) para eliminar el grupo DMT unido al extremo terminal 5'. Después de la exposición al ácido durante el tiempo prescrito y la neutralización, se aísla el principio activo del OLIGONUCLEÓTIDO 1 y se seca.

45 Después de la etapa de desprotección ácida final (reacción g), la solución se neutraliza por la adición de hidróxido de sodio acuoso y el principio activo del OLIGONUCLEÓTIDO 1 se precipita de la solución mediante la adición de etanol. Se deja sedimentar el material precipitado en la parte inferior del recipiente de reacción y decanta el sobrenadante etanólico. El material precipitado se redisuelve en agua purificada y el pH de la solución se ajusta a un pH entre 7,2 y 7,3. La etapa de precipitación se repite. El material precipitado se disuelve en agua y la solución se filtra a través de un filtro de 0,45 micrones y se transfiere a placas de polipropileno desechables que se cargan después en un liofilizador. La solución se enfría a -50 °C. El secado primario se lleva a cabo a 25 °C durante 37 h.

50 La temperatura aumenta a 30 °C y se realiza una etapa de secado secundario durante 5,5 h. Después de la finalización del proceso de liofilización, el principio activo se transfiere a frascos de polietileno de alta densidad y se almacena a -20 °C.

Formas de esclerosis múltiple:

Existen cinco etapas de la etapa de la enfermedad y/o tipos de MS:

- 1) esclerosis múltiple benigna;
- 2) esclerosis múltiple recidivante-remitente (RRMS);
- 5 3) esclerosis múltiple secundaria progresiva (SPMS);
- 4) esclerosis múltiple recidivante progresiva (PRMS), y
- 5) esclerosis múltiple progresiva primaria (PPMS)

10 La esclerosis múltiple benigna es un diagnóstico retrospectivo que se caracteriza por 1-2 exacerbaciones con recuperación completa, sin discapacidad duradera y sin progresión de la enfermedad durante 10-15 años después de la aparición inicial. La esclerosis múltiple benigna, sin embargo, puede progresar a otras formas de esclerosis múltiple.

Los pacientes que sufren de RRMS experimentan exacerbaciones o recidivas esporádicas, así como períodos de remisión. Las lesiones y evidencia de pérdida axonal pueden ser o no visibles en MRI en los pacientes con RRMS.

15 SPMS puede evolucionar a partir de la RRMS. Los pacientes afectados con SPMS presentan recidivas, disminución del grado de recuperación durante las remisiones, remisiones menos frecuentes y déficits neurológicos más pronunciados que los pacientes con RRMS. Los ventrículos agrandados, que son marcadores de la atrofia del cuerpo calloso, el centro de la línea media y la médula espinal, son visibles en MRI de los pacientes con SPMS.

20 PPMS se caracteriza por una progresión constante de déficit neurológicos crecientes sin ataques o remisiones diferentes. Las lesiones cerebrales, daño difuso de la médula espinal y la evidencia de pérdida axonal son evidentes en MRI de los pacientes con PPMS. PPMS tiene períodos de exacerbación aguda mientras procede a lo largo de un curso de déficits neurológicos crecientes sin remisiones. Las lesiones son evidentes en MRI de los pacientes que sufren de PRMS (5).

25 Un síndrome clínicamente aislado (CIS) es un ataque monosintomático único compatible con MS, tal como neuritis óptica, síntomas del tronco encefálico, y mielitis parcial. En general se considera que los pacientes con CIS que experimentan un segundo ataque clínico tienen esclerosis múltiple clínicamente definida (CDMS). Más del 80 por ciento de los pacientes con un CIS y lesiones MRI llegan a desarrollar EM, mientras que aproximadamente el 20 por ciento tienen un proceso autolimitado (24, 25).

30 La esclerosis múltiple puede presentarse con neuritis óptica, visión borrosa, diplopía, movimientos involuntarios rápidos de los ojos, ceguera, pérdida del equilibrio, temblores, ataxia, vértigo, torpeza de un miembro, falta de coordinación, debilidad de una o más extremidades, tono muscular alterado, rigidez muscular, espasmos, hormigueo, parestesias, sensación de ardor, dolores musculares, dolor facial, neuralgia del trigémino, dolores punzantes agudos, dolor con hormigueo y ardor, lentificación del lenguaje, dificultades en el habla, cambios en el ritmo del habla, disfagia, fatiga, problemas de vejiga (que incluyen urgencia, frecuencia, vaciado incompleto e incontinencia), problemas intestinales (que incluyen constipación y pérdida del control intestinal), impotencia, 35 excitación sexual disminuida, pérdida de la sensibilidad, sensibilidad al calor, pérdida de la memoria a corto plazo, pérdida de concentración, o pérdida de juicio o razonamiento.

Forma recidivante de la esclerosis múltiple:

El término MS recidivante incluye:

- 1) pacientes con RRMS;
- 40 2) pacientes con SPMS y recidivas superpuestas; y
- 3) pacientes con CIS que muestran diseminación de la lesión en subsiguientes escaneados MRI de acuerdo con los criterios de McDonald.

Como se usa en la presente, las formas recidivantes de la esclerosis múltiple incluyen:

45 Esclerosis múltiple recidivante-remitente (RRMS), que se caracteriza por episodios agudos impredecibles de disfunción neurológica (recidivas), seguidos de recuperación variable y períodos de estabilidad clínica;

MS progresiva secundaria (SPMS), en pacientes con RRMS desarrollan deterioro sostenido con o sin recidivas superpuestas; y

Esclerosis múltiples recidivante progresiva primaria (PPRMS) o la esclerosis múltiple progresiva-recidivante (PRMS), una forma poco común en la que los pacientes que desarrollan un deterioro progresivo desde el principio también

pueden desarrollar recaídas posteriormente.

Como se usa en la presente, "curso de la administración" se refiere al tratamiento entero desde la primera administración del compuesto y continuando hasta que la cesación de la administración periódica. Por ejemplo, el compuesto se puede administrar una vez al mes durante 2 meses, o durante 6 meses, o durante 12 meses, o durante 2 años, etc.

Trombocitopenia

La sangre humana contiene aproximadamente entre 150.000 y 440.000 plaquetas por microlitro. El sangrado puede ocurrir con trauma relativamente menor cuando el recuento de plaquetas cae por debajo de aproximadamente 50.000 plaquetas por microlitro de sangre. Los riesgos graves generalmente no ocurren hasta que el recuento de plaquetas cae por debajo de 10.000 a 20.000 plaquetas por microlitro, donde puede ocurrir un sangrado sin ninguna lesión (26).

"C_{max}" se refiere a la concentración máxima o "pico" de un fármaco observada después de su administración. C_{min} se refiere a la concentración mínima o "valle" de un fármaco observada después de su administración y justo antes de la administración de una dosis posterior.

Ejemplos

El OLIGONUCLEÓTIDO 1 se puede obtener por el proceso descrito en la patente US N.º 5.968.826, 6.242.591 y 6.258.790,

Ejemplo 1:

Para evaluar la eficacia y seguridad de un régimen de tratamiento seleccionado de OLIGONUCLEÓTIDO 1 usando MRI en pacientes con MS remitente-recidivante (RRMS) en comparación con placebo.

Se llevo a cabo un ensayo aleatorizado, multicéntrico, doble ciego y controlado con placebo con el fin de probar el concepto terapéutico y determinar el perfil farmacocinético del OLIGONUCLEÓTIDO 1 (oligonucleótido antisentido VLA-4) mediante inyecciones subcutáneas, en 77 sujetos con diagnóstico de RRMS (ver Tabla I).

Procedimientos

Con el fin de ser incluidos en el estudio, hombres y mujeres de 18-55 años de edad deben haber sido diagnosticados con esclerosis múltiple recidivante remitente (RRMS).

- Los pacientes deben tener al menos 9 lesiones T2 o al menos 4 si una está potenciada con gadolinio;
- los pacientes deben tener tenido al menos una recidiva dentro de los últimos 12 meses;
- los pacientes no deben haber tenido recidiva cuatro semanas antes del inicio del estudio;
- los pacientes deben tener una puntuación EDSS de 0-6,0;
- los pacientes deben poder proporcionar el consentimiento informado por escrito; y
- las pacientes en edad fértil deben usar procedimientos anticonceptivos confiables tales como esterilización quirúrgica, anticonceptivos orales.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Uso de cualquier fármaco en fase de investigación dentro de los dos meses antes del enrolamiento o dentro de cuatro meses si el fármaco en fase de investigación es una entidad química nueva;
- pacientes con enfermedad progresiva;
- pacientes con hallazgos clínicamente relevantes concomitantes en RMI que pueden interferir con la evaluación de los resultados;
- pacientes que han habían sido tratados con anticuerpos anti-VLA-4, anticuerpos anti-CD4, u otros anticuerpos monoclonales;
- pacientes que se sometieron a irradiación linfóide total en algún momento;
- pacientes que han recibido fármacos inmunomoduladores dentro de dos meses o fármacos inmunosupresores en los seis meses anteriores al enrolamiento;
- pacientes que son VIH positivo;

- pacientes con niveles detectables de virus JC en la sangre se mide por PCR cuantitativa;
 - pacientes con deterioro renal que tiene creatinina sérica de 2,0 mg/dl;
 - pacientes que tienen un historial de trastornos gastrointestinales, hepáticos, renales, endocrinos, hematológicos, metabólicos, neurológicos (que no sea MS) o enfermedad psiquiátrica clínicamente relevantes;
- 5
- pacientes con infecciones con recuento de linfocitos de > 3000 μ L;
 - pacientes que tienen antecedentes de algunas hemorragias;
 - pacientes que tienen antecedentes de anormalidades de la coagulación;
 - pacientes que reciben ácido acetilsalicílico concomitante (> 300 mg/día) y fenprocumon;
 - pacientes mujeres que están embarazadas o amamantando;
- 10
- pacientes que tienen un historial de abuso de drogas o alcohol;
 - pacientes que tienen anormalidades clínicamente relevantes en los hallazgos físicos en el examen de selección si interfiere con el objetivo del estudio; pacientes que tienen epilepsia;
 - sujetos suicidas;
- 15
- pacientes que tienen antecedentes de alergia a medicamentos y/o hipersensibilidad a fármacos conocidas; pacientes que son incapaces de comunicarse o cooperar con el investigador debido a problemas de lenguaje;
 - pacientes que tienen el desarrollo mental deficiente o función cerebral alterada;
 - pacientes que tienen alguna afección médica que, a criterio del investigador, podría interferir en los objetivos del estudio;
 - pacientes que han repetido la participación en el estudio;
- 20
- pacientes que tienen contraindicación para la aplicación del fármaco de estudio;
 - pacientes que han sido tratados con corticosteroides dentro de seis semanas antes de la inscripción y durante el período de estudio; y
 - pacientes no deben presentar los criterios de exclusión de MRI, tal como metal alojado en el cuerpo (por ejemplo, implantes), marcapasos, válvulas, implantes cocleares, clips vasculares del SNC, alergia al medio de contraste (Gd-DTPA).
- 25

Tabla I

Poblaciones de pacientes				
	Placebo		OLIGONUCLEÓTIDO 1	
				Total
Pacientes aleatorizados	41	(100%)	36	(100%)
Población de seguridad (aleatorizada y tratada)	41	(100%)	36	(100%)
Población ITT (MRI válido en la selección en al menos un MRI pos-inicial)	39	(95,1%)	35	(97,2%)
				74 (96,1%)

Tabla II

Características iniciales del paciente			
Características iniciales	Estadística	Placebo N=41	OLIGONUCLEÓTIDO 1 N=36
Edad (años)	Media (SD)	38,0 (9,90)	39,6(8,78)
Sexo: Femenino Masculino	n(%)	25 (61,0)	26 (72,2)
	n(%)	16 (39,0)	10 (27,8)
Duración de MS (años)	Media (SD)	3,76 (4,14)	5,67 (6,48)
Puntuación EDSS	Media (SD)	283 (1,42)	2,49 (1,17)
Lesión T1	Media (SD)	1,1 (2,28)	1,2 (2,58)
Volumen de la lesión T1 (mm ³)	Media (SD)	121 (305,7)	151 (370,6)

Administración del OLIGONUCLEÓTIDO 1

36 pacientes elegibles recibieron el OLIGONUCLEÓTIDO 1 de la siguiente manera:

5 I. *Ciclo de inducción:*

A los pacientes se les administraron tres dosis subcutáneas de 'inducción' de OLIGONUCLEÓTIDO 1, 200 mg/inyección cada una, en los días 1, 4, y 7.

II. Ciclo de mantenimiento:

10 Siguió al ciclo de inducción y comprendió la administración subcutánea de 200 mg/inyección de OLIGONUCLEÓTIDO 1 dos veces por semana (en los días 4 y 7 de la semana); duró siete semanas.

III. Ciclo sin tratamiento:

Siguió al ciclo de mantenimiento; duró ocho semanas.

41 pacientes elegibles recibieron placebo, en una manera similar a la del OLIGONUCLEÓTIDO 1. 77 pacientes completaron el estudio.

15 Producto OLIGONUCLEÓTIDO 1

La solución para inyección subcutánea solo contenía el OLIGONUCLEÓTIDO 1, en WFI (agua para inyección) se ajustó a pH 7,4 con ácido o base durante la mezcla. La solución era transparente con un color amarillo claro. Se envasó en un vial de vidrio flint Tipo I, que se tapó con un tapón de bromobutil caucho que tiene un revestimiento de Teflon® y sellado con un sello flip-off de aluminio.

20 Los pacientes elegibles se asignaron aleatoriamente a uno de los siguientes grupos de tratamiento:

Grupo de tratamiento A:

Tratamiento activo(OLIGONUCLEÓTIDO 1)	Dosis aplicada total
Inyección subcutánea que contiene OLIGONUCLEÓTIDO 1	3400 mg

Grupo de tratamiento B:

Tratamiento con placebo (Placebo)	Dosis aplicada total
Inyección subcutánea que contiene solo cloruro de sodio y ninguna colorante	ninguna

Cada paciente recibió un envase del paciente que consistía en 34 viales (+ 2 viales de reserva) que contienen 100 mg de OLIGONUCLEÓTIDO 1 o 34 viales (+ 2 viales de reserva) que contienen solución de placebo cada uno, y 36 jeringas adecuadas para la inyección subcutánea. Una etiqueta removible se fijó al envase del paciente.

- Se realizó el MRI inicial en el Día -7 del estudio;
- 5 • se realizó el MRI 4 semanas después de la 9na dosis;
- se realizó el MRI 8 semanas después de la 17va dosis; y
- se realizaron las evaluaciones de la Escala expandida del estado de discapacidad de Kurtzke (EDSS) en las visitas 1, 5, 6, y 8 y también cuando se produjo una recidiva.

Mediciones

10 *Signos vitales:*

Los signos vitales se midieron en las visitas 1 y 6. Después de que el paciente había estado en posición supina durante 5 minutos, se mide la presión arterial sistólica y diastólica y pulso en la posición supina y siempre en el mismo brazo del paciente.

Electrocardiograma (ECG):

- 15 Se llevó a cabo un ECG de 12 derivaciones en las visitas 1 y 6 después de que el paciente había estado en posición supina durante 5 minutos.

Muestras de sangre:

Las muestras de sangre los parámetros de hematología, química clínica y coagulación se recolectaron de cada paciente para la determinación de los siguientes parámetros en la visita 1 y en las visitas 5, 6, y 8. El análisis de las

20 muestras de sangre se llevó a cabo en los laboratorios locales certificados. El fragmento Bb del complemento Bb se analizó en Bioscientia en Ingelheim.

- Hematología:
Eritrocitos, leucocitos, neutrófilos, plaquetas, hematocrito, hemoglobina, WBC (total), linfocitos, monocitos.
- Química clínica:
25 Sodio, potasio, urea, fosfatasa alcalina, glucosa, γ-GT, SGOT, SGPT, bilirrubina total, proteína total, creatinina
- Parámetros de coagulación:
Tiempo de tromboplastina parcial, PT, TT.
- Muestras de sangre para células CD8+/CD4+:
30 Se recolectaron en las visitas 2, 6, 7 y 8. Los ensayos de células CD8+/CD4+ se llevaron a cabo en la Universidad Essen.
- Muestras de sangre para el control del virus JC:
Se recolectaron en las visitas 1, 5, 6, 7, y 8. El control del virus JC para el análisis qPCR del plasma se realizó sobre una base en curso y las células de la capa leucocitaria se habían almacenado congeladas para su posible análisis al final del ensayo. El ensayo se llevó a cabo en Bioscientia, Ingelheim.
35
- Muestras de sangre para la prueba de VIH:
Se recolectaron en la visita 1. Se realizó la prueba de VIH en Bioscientia, Ingelheim.

Muestras de orina:

- 40 Las muestras de orina para el control del virus JC se recolectaron de cada paciente en las visitas 1, 5, 6, 7, y 8. El ensayo de control del virus JC fue realizada por Bioscientia, Ingelheim. El análisis de orina se realizó en el laboratorio local.

MRI:

Se realizaron cinco escaneados MRI por paciente, para ser realizados para el ajuste del valor basal (Día -7), en la semana 4 (después de 9 dosis), semana 8 (después de 17 dosis), semana 12, y semana 16. Se realizó un

escaneado MRI adicional en el caso de recidiva. La evaluación MRI se realizó mediante:

- Imágenes potenciadas en T2;
- Imágenes potenciadas en T1 pre-contraste; y
- Imágenes potenciadas en T1 pos-gadolinio.

- 5 Los escaneados MRI fueron analizados por IAC (Image Analysis Centre, VU Medical Centre, Amsterdam, Países Bajos) por un lector experimentado cegado a la asignación del tratamiento.

Antes de la iniciación, cada centro había pedido que enviar un escaneo simulado para evaluar los procedimientos de calidad de imagen y envío, y para evaluar la accesibilidad del soporte de datos electrónicos. Esto se utilizó para ajustar las secuencias de MRI exactas, que eran específicas de su proveedor. Solo después de la aprobación final del escaneo simulado se permitió a los sitios comenzar a escanear los pacientes, sin permitir desviaciones del protocolo de escaneo final para ese sitio particular. Una vez que los pacientes habían sido enrolados, en cada escaneo realizado, se evaluó la calidad en el IAC y se informó al sitio contribuyente, como parte de un procedimiento de garantía de calidad en curso. Una vez que los datos llegaron al IAC, se registraron, copiaron y almacenaron. Los sitios y los monitores fueron debidamente informados por fax acerca de la aceptación de los escaneados. Las lesiones fueron marcadas en copias impresas por un radiólogo cegado a la identificación del paciente completo y asignación al tratamiento.

Adquisición de la imagen MRI:

Se estandarizó la posición del paciente colocando la cabeza del paciente en la bobina para cabeza de una manera bien definida (por ejemplo, puente nasal en el centro). La rotación en el plano coronal se minimizó mediante el centrado de un haz de luz horizontal en el centro de la bobina, así como a través de la cresta orbital. La cabeza del paciente debía estar apoyada dentro de la bobina para cabeza con cojines de espuma con el fin de minimizar el movimiento del paciente. La rotación del plano horizontal había sido minimizada mediante el centrado de un haz de luz vertical sobre la nariz. Una línea IV larga conectada a una infusión por goteo con solución salina se había insertado antes de mover al paciente en el escáner de manera que el gadolinio podría inyectarse durante la sesión sin mover la mesa (lo que evita de este modo el movimiento de la cabeza del paciente entre las secuencias).

Todas las secuencias de MR se realizaron usando cortes gruesos de 3 mm, con un campo de visión de 25 cm (FOV), y una matriz cuadrada de 256 x 256 para producir aproximadamente 1 por 1 mm píxeles. El escaneo real comenzó con imágenes del localizador eco del espin (SE) potenciado en T1 sagital. Todas las imágenes transaxiales se planificaron a partir de la imagen sagital media, usando secciones intercaladas 2 x 23 con un espesor de 3 mm utilizando una brecha de 3 mm (100%) hueco. Esto produjo 46 cortes consecutivos con un intervalo Z de 13,8 cm, de este modo abarca la cabeza desde el vértice al foramen magno; el corte medio de la serie superior se alineó con el borde inferior del esplenio del cuerpo calloso.

Se usó un FOV rectangular (por ejemplo 3/4 o 75%) FOV. Esto permitió una reducción proporcional en el número de etapas de codificación de fase (por ejemplo, 192 en lugar de 256), siempre que se obtuvieran 1 x 1 mm píxeles cuadrados sin despliegue de artefactos (codificación de la fase de derecha a izquierda para las imágenes transaxiales). No se emplearon técnicas tales como "transformada de Fourier-media", "porcentaje de escaneo reducido" (Philips Healthcare;; Best, Holanda) o "1/2 NEX" (General Electric Healthcare; Tirat Hacarmel, Israel), ya que reducen sustancialmente la relación señal-ruido.

La primera secuencia transaxial (siguiendo los escaneados piloto), fue un eco del espin convencional potenciado en T1 precontraste (SE) [TR 400-700 ms/ TE 5-25 ms/2 excitaciones]. Después, se administró gadolinio-DTPA en una dosis estándar de 0,1 mmol/kg, por medio de una línea IV larga. La segunda serie transaxial fue un SE eco dual [2000-3000 ms/TE1: 15-40 ms, TE2: 60-100 ms/1 excitación]. Cuando se usó un SE turbo o rápido el factor turbo fue limitado (por ejemplo, 5-6). La tercera y última secuencia transaxial fue una SE convencional potenciada en T1 pos-contraste [400-700ms/5-25ms/2 excitaciones].

45 Farmacocinética:

- Oligonucleótido 1:

Las muestras de sangre (7 ml) se obtuvieron en las visitas 2, 5, 6, y 8 para evaluar los niveles plasmáticos del oligonucleótido 1. En las visitas 2, 5, y 6, esto se realizó antes y 1, 2, 3, 4, y 6 horas después de la inyección de OLIGONUCLEÓTIDO 1/Placebo. En la visita 8 se obtuvo una sola muestra. Las muestras de sangre se centrifugaron durante 10 min a 1.600 g y a una temperatura de 4 °C 10 min después de la extracción. El sobrenadante se transfirió a tubos de polipropileno rotulados (2 tubos por muestra) mediante pipeteo y se transfirió adicionalmente a un congelador para almacenar a una temperatura de -20 °C (tolerancia + 5 °C) o menor.

- Mediciones de VLA-4:

Las muestras de sangre se obtuvieron en las visitas 2, 6, 7 y 8 para la evaluación de los niveles de VLA-4. Se necesitaba 36 ml de sangre entera para el ensayo de VLA-4 en los linfocitos.

- Mediciones de CD8+/CD4+:

- 5 Para la evaluación de los recuentos de células CD8+/CD4+, se analizaron las muestras de sangre de las visitas 2, 6, 7 y 8 usando los 36 ml de muestra de sangre obtenidos para el ensayo de VLA-4.

Resultados

Medición de resultados primarios

- 10 Los pacientes que habían estado recibiendo 200 mg de OLIGONUCLEÓTIDO 1 dos veces por semana, por una vía de administración subcutánea durante el período de estudio, mostraron una reducción significativa de 54,4% ($p = 0,01$) de número acumulativo de nuevas lesiones activas en el cerebro, que incluyen todas las lesiones medidas en las semanas 4, 8 y 12 por el MRI, en comparación con los pacientes que habían recibido el placebo (Fig.1). Además, los pacientes que habían sido tratados con el OLIGONUCLEÓTIDO 1, mostraron 62% de reducción ($p = 0,0089$) en el número acumulativo de nuevas lesiones activas en el cerebro, medidas en las semanas 8 y 12 por el MRI, en comparación con el grupo placebo (Fig. 2). Además, los pacientes que habían sido tratados con el OLIGONUCLEÓTIDO 1, también mostraron 65% de reducción ($p = 0,0053$) y 74% de reducción ($p = 0,0026$) en el número acumulativo de lesiones T1 potenciadas con gadolinio en el cerebro, medidas en las semanas 4, 8 y 12 o en las semanas 8 y 12 por MRI, en comparación con los pacientes que habían sido tratados con el placebo respectivamente (Fig 3-4.). El número acumulativo de lesiones T2 nuevas o recientemente agrandadas en el cerebro medidas por MRI en las semanas 4, 8 y 12 también se redujo mediante el tratamiento con el OLIGONUCLEÓTIDO 1 (Fig. 5). El tratamiento con el OLIGONUCLEÓTIDO 1 produjo un 32% ($p = 0,0248$) de aumento en el número de sujetos sin lesiones potenciadas con gadolinio, medidas en las semanas 8 y 12 (Fig.6) El efecto máximo de la administración de OLIGONUCLEÓTIDO 1 se observó durante el ciclo sin tratamiento, en la semana 12 (Figura 8). Este hallazgo indica una alta estabilidad del OLIGONUCLEÓTIDO 1 y por lo tanto respalda adicionalmente la administración de una dosificación menos frecuente y/o dosis más bajas del OLIGONUCLEÓTIDO 1.

Conclusiones

- En un ensayo doble ciego controlado con placebo, se ha demostrado que el OLIGONUCLEÓTIDO 1 es efectivo en la prevención de la acumulación de nuevas lesiones detectables por MRI en el cerebro, lentificando de este modo la progresión de la RRMS. Este agente es un primer ejemplo de un oligonucleótido antisentido que ha demostrado ser efectivo y seguro en el tratamiento de la MS.

Medición de resultados secundarios

- El criterio de valoración secundario del estudio muestra una disminución acumulativa del volumen de las lesiones potenciadas con gadolinio medidas por MRI (incluyen todas las lesiones de las semanas 4, 8, y 12), corregido por el volumen de las lesiones potenciadas con gadolinio en el estado inicial en el cerebro de pacientes que habían sido tratados con 200 mg del OLIGONUCLEÓTIDO 1 dos veces por semana por una vía de administración subcutánea de 84% en comparación con el grupo de placebo en la semana 12 (Fig.7).

Mediciones adicionales

Trombocitopenia

- La trombocitopenia fue uno de los principales problemas de seguridad. Este fenómeno se observó con los oligonucleótidos antisentido de primera generación. Durante el estudio, se observó una disminución del recuento de plaquetas en todos los pacientes tratados con oligonucleótidos 1. 12 pacientes (33%) presentaron una disminución por debajo de 150.000 en algún momento durante el tratamiento; 6 pacientes (17%) tuvieron una disminución clínicamente significativa por debajo de 100.000; 2 pacientes se retiraron del estudio. Ninguno de los pacientes presentó episodios de sangrado o cualquier otro síntoma clínico relacionado con trombocitopenia. Todos los sujetos mostraron recuperación cuando se retiró el fármaco, lo que indica que el efecto fue rápidamente reversible. Se contempla un cambio de régimen de tratamiento a una dosificación menos frecuente para resolver este a manteniendo al mismo tiempo los beneficios terapéuticos.

Datos farmacocinéticos

- Los perfiles farmacocinéticos promedio del OLIGONUCLEÓTIDO 1 no muestran indicación de niveles de exposición plasmática del pico de acumulación o totales desde el Día 1 a la Semana 8. (Fig.9 y la Tabla III).

El aumento de las concentraciones de C_{min} durante la fase de tratamiento sugiere que OLIGONUCLEÓTIDO 1 se acumula en el tejido con múltiples administraciones de dosis. La disminución en las concentraciones de C_{min} durante la fase de seguimiento sugiere que el $t_{1/2}$ de eliminación es de aproximadamente 3 semanas.

Tabla III.

Parámetros PK del OLIGONUCLEÓTIDO I	
C _{max}	10157-10895 ng/mL (media)
T _{max}	3 hr (mediana)
AUC _{last}	46587-48521 h.ng/mL (media)

Ejemplo 2:

5 Se realiza otro ensayo clínico siguiendo sustancialmente Ejemplo 1 excepto que la administración del OLIGONUCLEÓTIDO 1 se modifica en los siguientes tres grupos:

- 1) 200 mg por semana;
- 2) 200 mg cada 2 semanas; y
- 3) 400 mg cada 4 semanas.

10 En este ensayo clínico, se obtienen efectos similares a los del Ejemplo 1 con respecto al número acumulativo de nuevas lesiones activas y el volumen de las lesiones potenciadas con gadolinio. Además, también se observa una reducción en la tasa de recidiva e inhibición de la progresión de la discapacidad. Además, usando los tres tipos de administración, se limita la Trombocitopenia y ningún paciente se retira del ensayo debido a un recuento de plaquetas inferior a 50.000 por microlitro de sangre. La mayoría de los pacientes tiene un recuento de plaquetas superior a 100.000 o 150.000 plaquetas por microlitro de sangre.

15

Referencias:

1. McDonald WI, Compston A, Edan G et al., "Recommended Diagnostic Criteria for Multiple Sclerosis: Guidelines from the International Panel on the Diagnosis of Multiple Sclerosis"., *Ann Neurol* 2001;50:121-127
- 5 2. CPMP - Committee for Proprietary Medicinal Products. "Note for Guidance on Good Clinical Practice." London, 1997, January; CPMP/ICH/135/95:1-58.
3. CPMP - Committee for Proprietary Medicinal Products. "Note for Guidance on Clinical Investigation of Medicinal Products for the Treatment of Multiple Sclerosis." London, 1999, July 28; CPMP/EWP/561/98:1-10.
4. Medizinfo, Multiple Sklerose. Epidemiologie. Disponible de URL: www.medizinfo.de/kopfundseele/multiplesklerose/msept.htm
- 10 5. Johnson D, Hafler DA, Fallis RJ, Lees MB, Brady RO, Quarles RH, Weiner HL., "Cell-mediated immunity to myelin-associated glycoprotein, proteolipid protein, and myelin basic protein in multiple sclerosis.", *J Neuroimmunol.* 1986 Nov 13 (1):99-108.
6. Chou YK, Bourdette DN, Offner H, Whitham R, Wang RY, Hashim GA, Vandenbark AA., "Frequency of T cells specific for myelin basic protein and myelin proteolipid protein in blood and cerebrospinal fluid in multiple sclerosis.", *J Neuroimmunol.* 1992 May; 38(1-2):105-13.
- 15 7. de Rosbo NK, Milo R, Lees MB, Burger D, Bernard CC, Ben-Nun A., "Reactivity to myelin antigens in multiple sclerosis. Peripheral blood lymphocytes respond predominantly to myelin oligodendrocyte glycoprotein.", *J Clin Invest.* 1993 Dec; 92(6):2602-8.
8. de Rosbo NK, Ben-Nun A., "T-cell responses to myelin antigens in multiple sclerosis; relevance of the predominant autoimmune reactivity to myelin oligodendrocyte glycoprotein.", *J Autoimmun.* 1998 Aug; 11(4):287-99.
- 20 9. van Noort JM, van Sechel AC, Bajramovic JJ, el Ouagmiri M, Polman CH, Lassmann H, Ravid R., "The small heat-shock protein alpha B-crystallin as candidate autoantigen in multiple sclerosis.", *Nature* 1995 Jun 29;375(6534):798-801.
10. Pelfrey CM, Tranquill LR, Vogt AB, McFarland HF., "T cell response to two immunodominant proteolipid protein (PLP) peptides in multiple sclerosis patients and healthy controls.", *Mult Scler.* 1996 Apr; 1(5):270-8.
- 25 11. Diaz-Villoslada P, Shih A, Shao L, Genain CP, Hauser SL., "Autoreactivity to myelin antigens: myelin/oligodendrocyte glycoprotein is a prevalent autoantigen." *J Neuroimmunol.* 1999 Sep 1;99(1):36-43.
12. Pender MP, Csurhes PA, Greer JM, Mowat PD, Henderson RD, Cameron KD, Purdie DM, McCombe PA, Good MF., "Surges of increased T cell reactivity to an encephalitogenic region of myelin proteolipid protein occur more often in patients with multiple sclerosis than in healthy subjects.", *J Immunol.* 2000 Nov 1; 165(9):5322-31.
- 30 13. Rovira A, León A, "MR in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis: An overview.", *Eur J Radiol* (2008)
14. Van Oosten BW, Lai M, Hodgkinson S, Barkhof F et al., "Treatment of multiple sclerosis with the monoclonal anti-CD4 antibody cM-T412: results of a randomised, double-blind, placebo-controlled MR-monitored phase II trial.", *Neurology.* 1997; 49:351-357.
- 35 15. Paty DW, Hashimoto SA, Ebers GC., "Management of Multiple Sclerosis and Interpretation of Clinical Trials.", *Multiple Sclerosis/editors, Paty. DW, Ebers GC, Philadelphia, 1998:457.*
16. Kuang-Yu Jen & Alan M. Gewirtz, "Suppression of Gene Expression by Targeted Disruption of Messenger RNA.", *Stem Cells* 2000;18:307-319.
- 40 17. Helene, C. and J.J. Toulme, "Specific regulation of gene expression by antisense, sense and antigene nucleic acids.", *Biochim Biophys Acta*, 1990;1049(2):99-125.
18. Cohen, J.S., "Antisense oligodeoxynucleotides as antiviral agents.", *Antiviral Res*, 1991;16(2):121-33.
19. Calabretta, B., "Inhibition of protooncogene expression by antisense oligodeoxynucleotides: biological and therapeutic implications.", *Cancer Res*, 1991;51(17):4505-10.
20. Crooke, S.T., "Progress toward oligonucleotide therapeutics: pharmacodynamic properties.", *Faseb J*, 1993;7(6):533-9.
- 45 21. Crooke, S.T., "Therapeutic applications of oligonucleotides.", *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1992;32:329-76.
22. Steinman, L., "Blocking adhesion molecules as therapy for multiple sclerosis: natalizumab.", *Nature Reviews Drug Discovery* 4, 510-518 (June 2005)

23. Gary R. Cutter, Monika L. Baier, Richard A. Rudick, Diane L. Cookfair, Jill S. Fischer, John Petkau, Karl Syndulko, Brian G. Weinshenker, Jack P. Antel, Christian Confavreux, George W. Ellison, Fred Lublin, Aaron E. Miller, Stephen M. Rao, Stephen Reingold, Alan Thompson and Ernest Willoughby, " Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure.", Brain 122:871-882, 1999.

5 24. Brex PA et al., "A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis", N Engl J Med 2002 Jan 17, 346(3):158-64.

25. Frohman EM et al., "The utility of MRI in suspected MS: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology", Neurology, 2003, Sep 9, 61(5):602-11.

10 26. The Merck Manual of Medical Information, Second Home Edition; Blood Disorders, Bleeding and Clotting Disorders.

www.merck.com/mmhe/print/sec14/ch173/ch173d.html, Last full review/revision May 2006 by Joel L. Moake, MD.

27.

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente efectiva de un oligonucleótido que tiene la estructura:



5 en la que

a) cada una de las 19 uniones internucleotídicas del oligonucleótido es un diéster de fosforotioato ligado a O,O;

b) los nucleótidos de las posiciones 1 a 3 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo);

10 c) los nucleótidos de las posiciones 4 a 12 del extremo 5' son 2'-desoxirribonucleósidos;

d) los nucleótidos de las posiciones 13 a 20 del extremo 5' son ribonucleósidos modificados con 2'-O-(2-metoxietilo); y

e) todas las citosinas ($^{\text{Me}}\text{C}$) son 5-metilcitosinas,

o una sal farmacéuticamente aceptable del oligonucleótido,

15 para uso en la disminución o inhibición de la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminución o inhibición de un aumento en el volumen de lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducción de la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con una forma recidivante de la esclerosis múltiple,

20 en la que la composición farmacéutica se administra periódicamente al sujeto humano para de este modo disminuir o inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir un aumento del volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en un sujeto humano afectado con la forma recidivante de la esclerosis múltiple.

2. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI es:

25 i) 25%-80% menor que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple al que no se le administra la composición farmacéutica, o

ii) 50%-65% menor después de 8 semanas de tratamiento que el número de nuevas lesiones cerebrales activas detectables por MRI en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple al que no se le administra la composición farmacéutica.

30 3. La composición farmacéutica de la reivindicación 1 o reivindicación 2 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio detectables por MRI es 25%-80% menor que el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio detectables por MRI en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple al que no se le administra la composición farmacéutica.

35 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 2 o reivindicación 3 para uso como se define en la reivindicación 1, en que el procedimiento MRI se selecciona del grupo que consiste en escaneado potenciado en T2, escaneado potenciado en T1 precontraste, y escaneado potenciado en T1 pos-gadolinio.

5. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la forma recidivante de la esclerosis múltiple es esclerosis múltiple recidivante remitente.

40 6. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la tasa de recidiva se reduce en más de 30% con respecto a la tasa de recidiva de un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple al que no se le administra la composición farmacéutica.

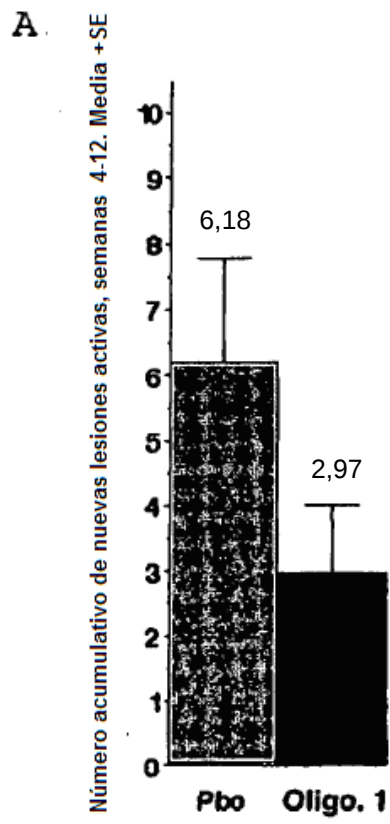
7. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para uso como se define en la reivindicación 1, que además comprende la inhibición de la progresión de la discapacidad en el sujeto humano.

45 8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la progresión de la discapacidad se reduce en 15%-70% medido por la puntuación EDSS con respecto a la progresión de la discapacidad en un sujeto humano afectado con la forma de esclerosis múltiple al que no se le administra la composición farmacéutica.

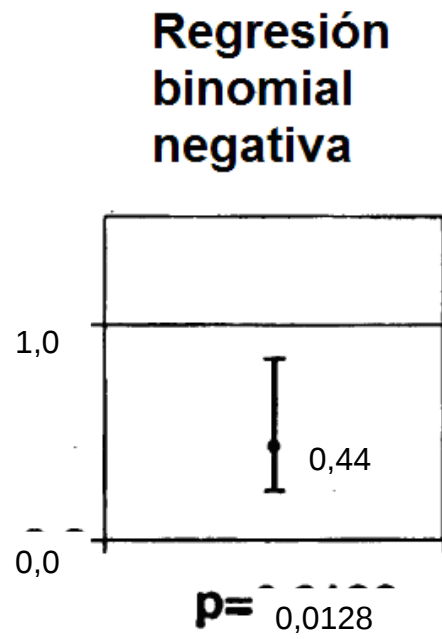
9. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la administración periódica es:

- i) una vez por semana,
 - ii) dos veces por semana,
 - iii) una vez cada dos semanas,
 - iv) una vez cada tres semanas,
 - 5 v) una vez cada cuatro semanas, o
 - vi) una vez por mes.
10. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la cantidad efectiva para disminuir o inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir el aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en el sujeto humano es:
- 10
- i) 50-400 mg,
 - ii) 200 mg,
 - iii) 400 mg, o
 - iv) 50 mg a menos de 400 mg.
- 15 11. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la cantidad efectiva para disminuir o inhibir la acumulación de nuevas lesiones cerebrales activas, disminuir o inhibir el aumento en el volumen de las lesiones cerebrales potenciadas con gadolinio, y reducir la tasa de recidiva en el sujeto humano es:
- i) 200 mg una vez por semana,
 - 20 ii) 200 mg una vez cada dos semanas, o
 - iii) 400 mg una vez cada cuatro semanas.
12. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que el recuento de plaquetas promedio del sujeto humano es superior:
- i) 100.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración, o
 - 25 ii) 150.000 plaquetas por microlitro de sangre durante el curso de la administración.
13. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la administración es efectiva para proporcionar una C_{max} del oligonucleótido en el plasma del sujeto humano de 10.000-11.000 ng/ml.
14. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que la composición farmacéutica se administra por vía subcutánea.
- 30
15. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que el oligonucleótido está en la forma de una sal de sodio o una sal de potasio.
16. La composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 para uso como se define en la reivindicación 1, en la que
- 35 i) el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta al pH 7,2-7,6, o
 - ii) el portador farmacéutico es WFI (agua para inyección) y la composición farmacéutica se ajusta a pH 7,4.

Fig. 1



B.



C.

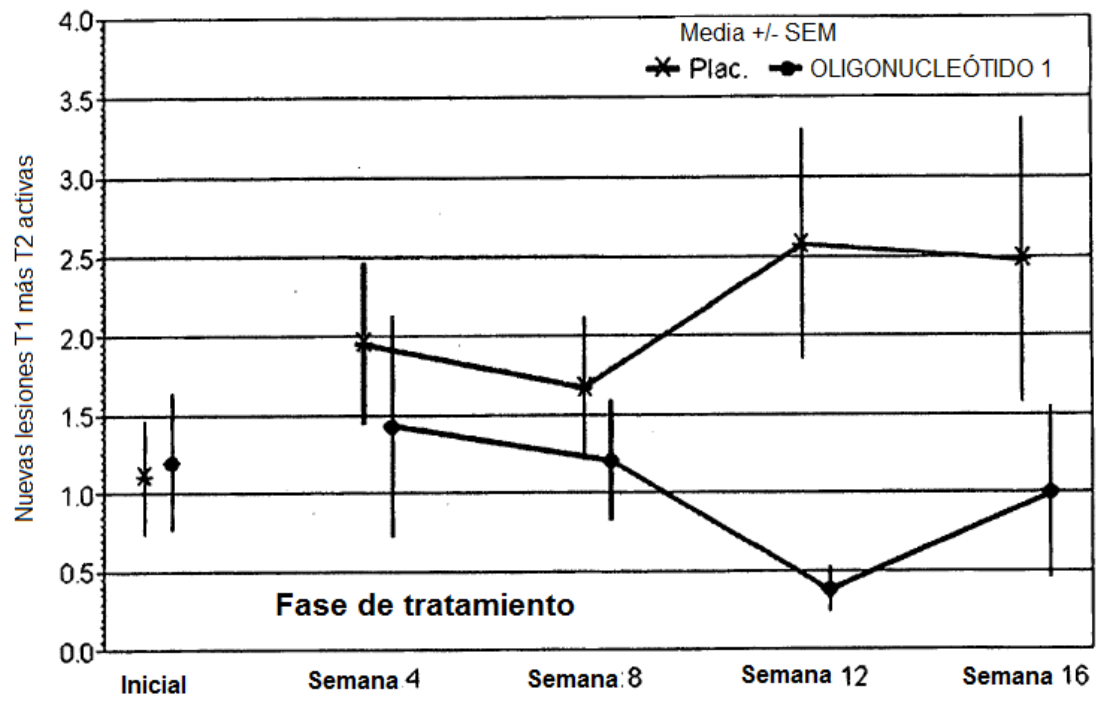
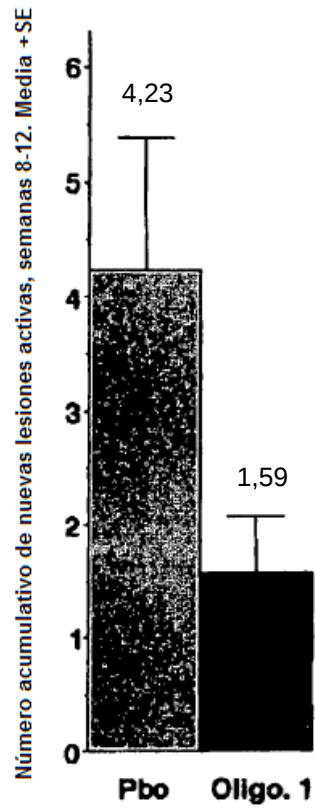


Fig 2

A.



B.

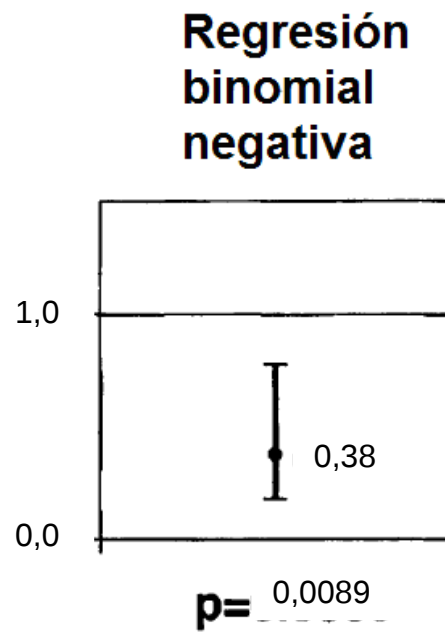


Fig. 3

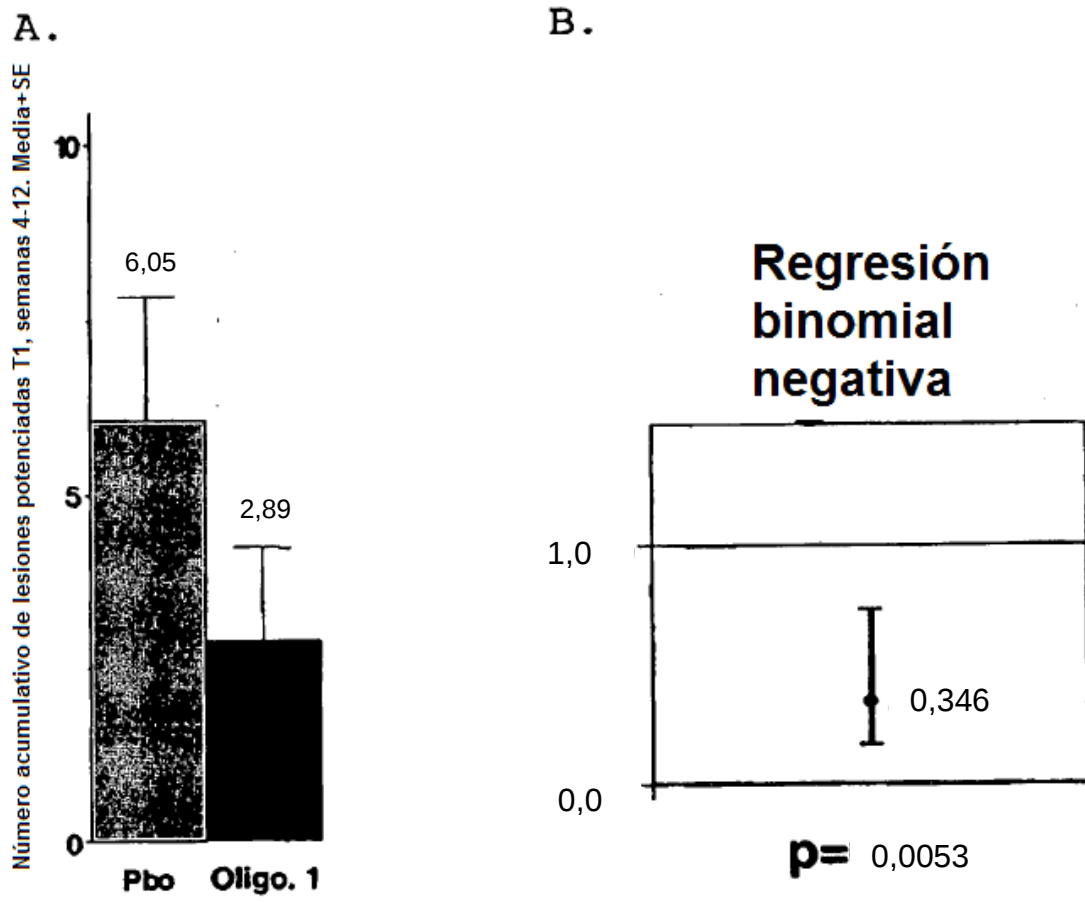


Fig. 3

C.

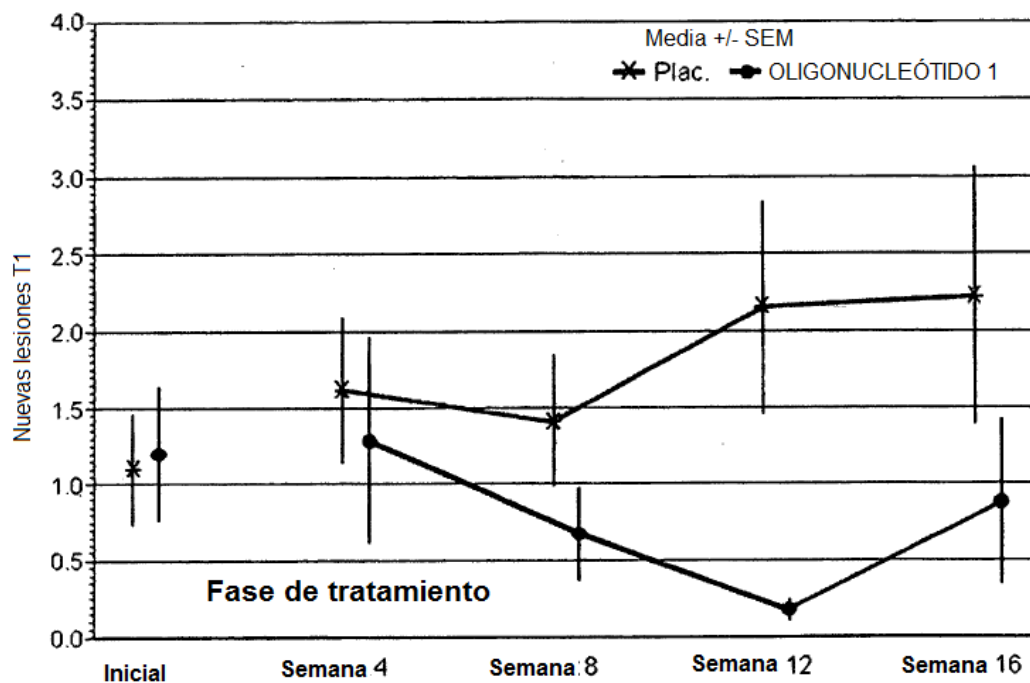


Fig.4

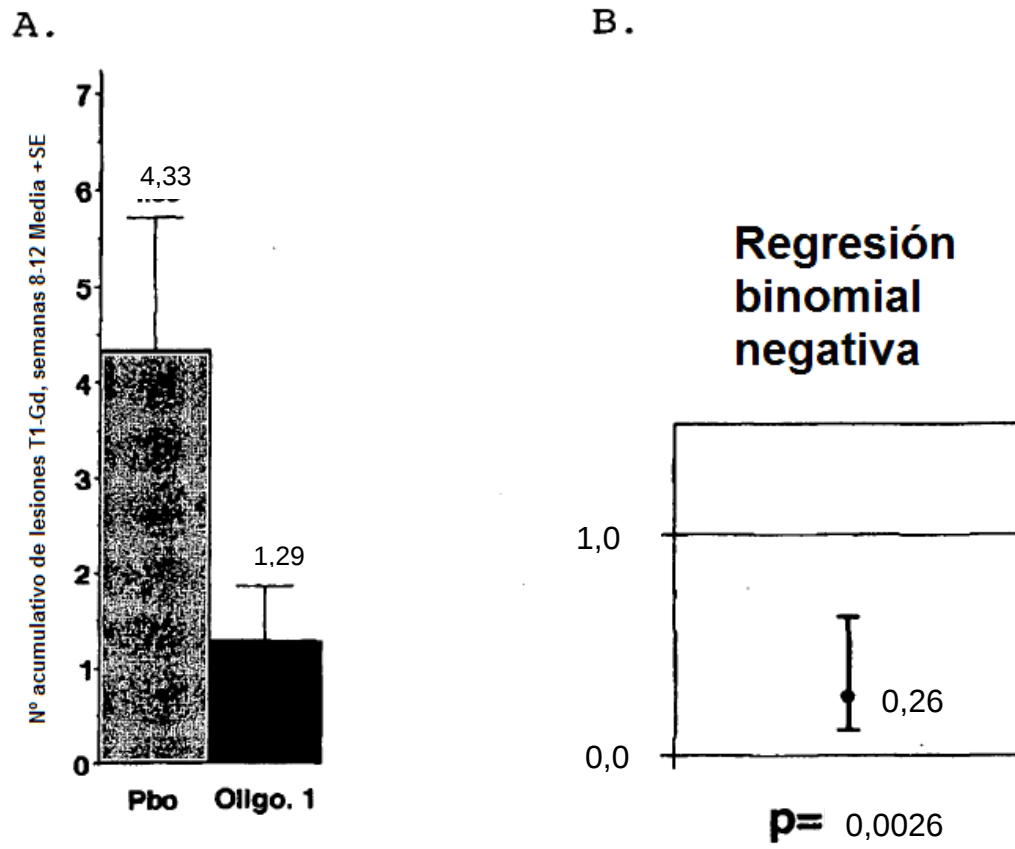


Fig.5

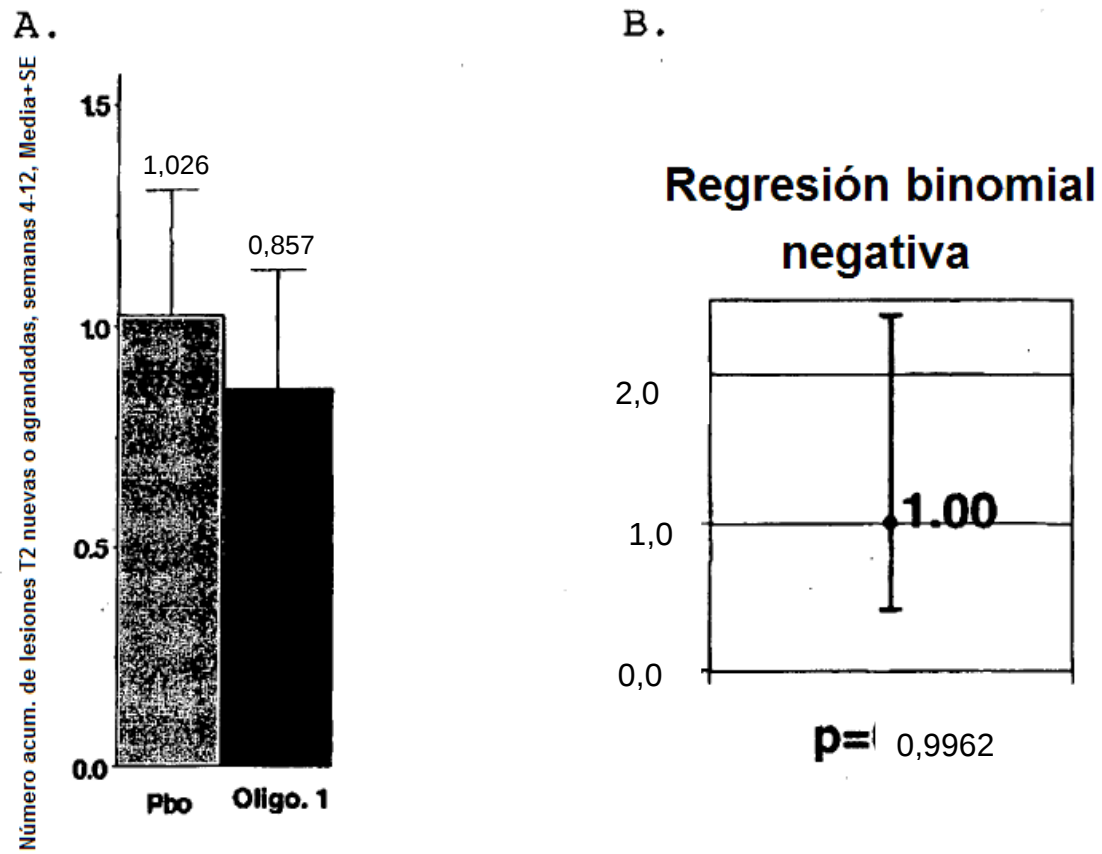
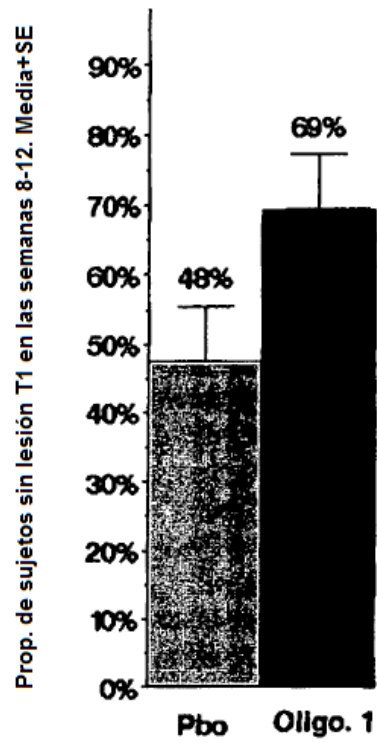


Fig. 6

A.



B.



Fig. 7

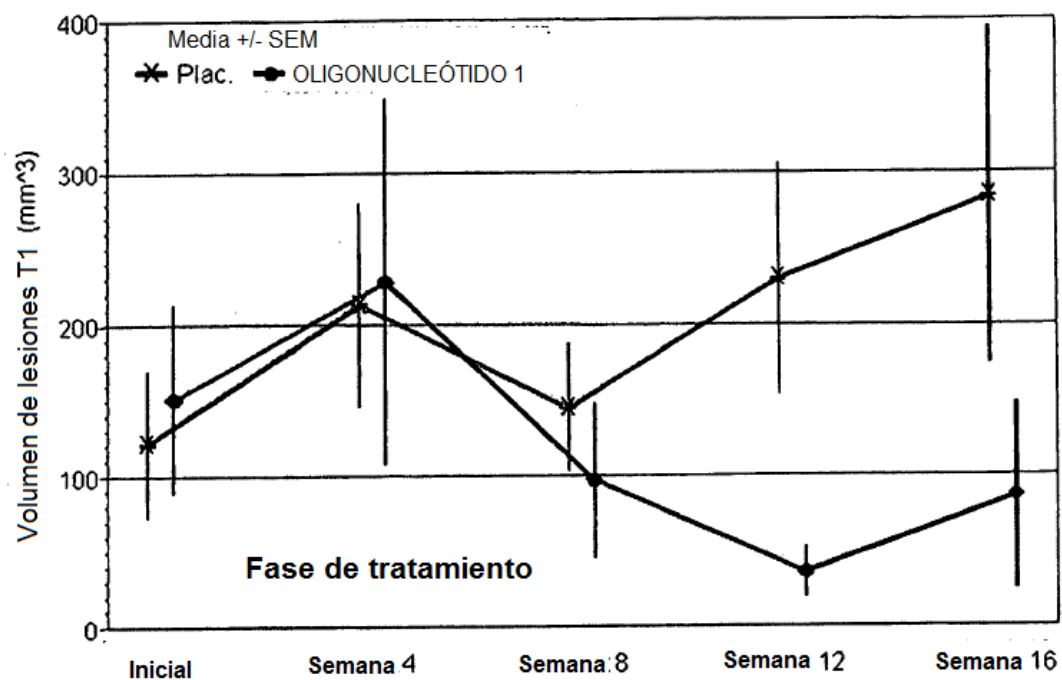


Fig. 8

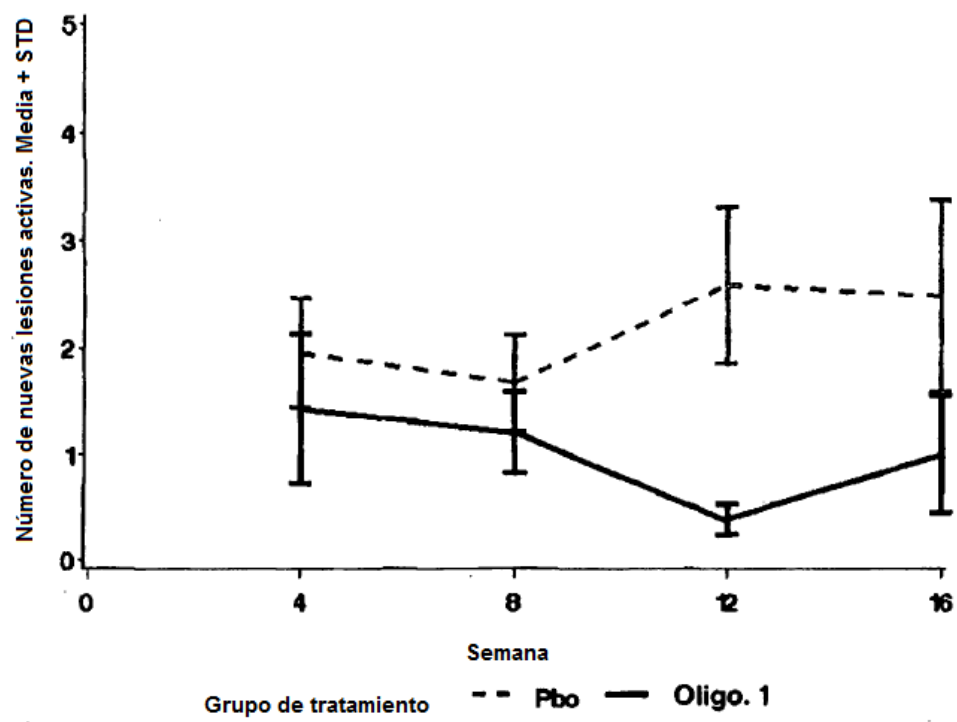


Fig. 9

