

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 604 586**

51 Int. Cl.:

A61K 38/48 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **27.04.2009 PCT/IB2009/005750**

87 Fecha y número de publicación internacional: **29.10.2009 WO09130600**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **27.04.2009 E 09734803 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.09.2016 EP 2280719**

54 Título: **Uso terapéutico de la neurotoxina botulínica de Tipo A en el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética**

30 Prioridad:

25.04.2008 FR 0802321

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

07.03.2017

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA S.A.S. (100.0%)
65, Quai Georges Gorse
92100 Boulogne-Billancourt, FR**

72 Inventor/es:

**FAVRE, CHRISTINE;
AUGUET, MICHEL y
CHABRIER DE LASSAUNIERE, PIERRE-ETIENNE**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 604 586 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

Uso terapéutico de la neurotoxina botulínica de Tipo A en el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética

Campo Técnico

5 La presente invención se refiere a la neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento o prevención del dolor causado por o asociado a la neuropatía periférica, concretamente la neuropatía diabética. Más específicamente, dicha al menos una neurotoxina botulínica se prepara o se formula para administración local y tiene un efecto analgésico distante.

10 Además la presente invención se refiere a los usos y métodos de tratamiento de la neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento o la prevención del dolor causado por o asociado a la neuropatía periférica, tal como la neuropatía diabética, donde dicha al menos una neurotoxina botulínica se administra localmente y tiene un efecto analgésico distante sobre la administración local.

Antecedentes de la invención

15 La neuropatía periférica es la disfunción de uno o más de los nervios periféricos (la parte de un nervio espinal distal de la raíz y el plexo). Incluye numerosos síndromes caracterizados por diversos grados de alteraciones sensoriales, dolor, debilidad muscular y atrofia, reflejos tendinosos profundos disminuidos, y síntomas vasomotores, a solas o en alguna combinación. La electromiografía y los estudios de velocidad de conducción nerviosa ayudan a localizar la lesión y determinar si la fisiopatología es ante todo axonal (a menudo metabólica) o desmielinizante (a menudo autoinmune).

20 La neuropatía periférica asociada a la diabetes (neuropatía diabética) es una polineuritis vinculada a la duración del control deficiente de la diabetes subyacente. Puede afectar a las extremidades superiores e inferiores y a los nervios craneales.

25 La neuropatía diabética es la consecuencia de un deterioro de ciertos nervios causado por la diabetes. Estos nervios pueden estar localizados en cualquier parte del organismo, estando algunas áreas más "en riesgo" que otras. Dependiendo del tipo de nervios afectados y del lugar donde están localizados en el organismo, se distinguen normalmente tres clases de neuropatía diabética.

La forma más frecuente es la polineuropatía simétrica distal. Esta enfermedad implica una disfunción de varios nervios (*poli* significa varios en griego) en las dos extremidades inferiores (*simétrica*) y en general se manifiesta especialmente en los pies (*distal*).

30 El dolor diabético es generalizado y no afecta solo a un único órgano a diferencia de otros ciertos tipos de dolor, que están localizados.

Se conocen tratamientos del dolor asociado a neuropatías periféricas, en particular diabéticas, incluidos agentes tópicos, antidepresivos tricíclicos, anticonvulsivos, y analgésicos no opioides.

35 La toxina botulínica, en particular la toxina botulínica de tipo A1 (Dysport® comercializado por Ipsen o Botox® comercializado por Allergan), ha sido utilizada para terapia humana desde 1980. Las enfermedades/trastornos tratados con toxina botulínica incluyen p.ej. trastornos musculares (por ejemplo blefarospasmo, espasticidad en adultos o niños o tortícolis), migraña, dolor de origen muscular, hiperhidrosis (transpiración excesiva), hipersalivación. En aplicaciones cosméticas, la toxina botulínica se usa para tratar las arrugas.

40 El documento de Patente WO 01/26736 describe un método de tratamiento del dolor asociado a la diabetes por administración intratecal (intraespinal) de neurotoxina botulínica de tipo A. Este documento muestra que la neurotoxina inyectada no se difunde o se transporta lejos del sitio de inyección en el SNC.

El documento de Patente US 2002/0192239 describe el tratamiento de dolor severo crónico relacionado con neuralgia o el dolor postoperatorio de una herida incisa por inyección de toxina botulínica en un área afectada de un paciente.

45 El documento de Patente US 2004/0247623 describe la administración transdérmica de toxina botulínica de tipo A para el tratamiento de migraña u otros trastornos asociados a la liberación de ciertos neurotransmisores a partir de las neuronas sensoriales. El documento de Patente US 2004/0247623 muestra la aplicación de la toxina botulínica directamente en el área afectada.

50 Batch-Rojecky y colaboradores (Journal of Neural Transmission 2005, vol. 112, no. 2, p. 215-219) describen la reducción de hiperalgesia térmica y mecánica por toxina botulínica de tipo A en un modelo experimental del dolor neuropático causado por neuropatía quirúrgica.

Argoff (Clinical Journal of Pain 2002, New York, vol. 18, no. 6, p. s177-s181) describe un estudio que usa inyecciones de toxina botulínica de tipo A en el sitio de máximo dolor en pacientes que sufren CRPS (síndrome de

dolor regional complejo) de tipo 1. Los pacientes experimentaron alivio del ardor y del dolor disestésico en las extremidades afectadas.

Attal y colaboradores (Neurology 2008, vol. 70, no. 11, Suppl. 1, p. A167) describen un efecto analgésico de la toxina botulínica de tipo A en pacientes con neuropatías dolorosas focales tras la inyección en la zona dolorida.

5 Lo Nigro y colaboradores (Medical and Pediatric Oncology 2002, vol. 38, no. 2, página 150) describen un niño de 2 años que padece leucemia y neuropatía periférica inducida por la quimioterapia. El niño también padece contracturas espásticas congénitas de la pierna derecha, que fue tratada por administración local de toxina botulínica en el músculo espático cada 3 meses hasta que la relajación se puso de manifiesto.

10 Ansiaux y colaboradores (Expert Opinion on Investigation-al drugs 2007, vol. 16, no. 2, páginas 209-218) informan del uso de toxinas botulínicas en terapia del cáncer, en particular un efecto de las toxinas botulínicas para inhibir las contracciones neurogénicas de los vasos tumorales con el fin de potenciar la terapia citotóxica.

15 Lackovic Z. y colaboradores (Acta Pharmcologica Sinica, Julio 2006, vol. 27, no. Suppl. 1, P280094, y Neurology, Marzo 2006, vol. 66, no. 5, Suppl. 2, página A376, 58th Annual Meeting of the American Academy of Neurology, San Diego, CA, USA; Abril 2006) describen el uso de toxina botulínica A (BTX-A) para el tratamiento de neuropatía diabética inducida en ratas por inyección subcutánea de aloxana o estreptozotocina. Una única inyección periférica de BTX-A (5-7 U/Kg) tuvo un efecto anti-nociceptivo significativo en la pata inyectada con formalina.

20 Relja y colaboradores (Neurology, Marzo 2006, vol. 66, no. 5, Suppl. 2, página A70, 58th Annual Meeting of the American Academy of Neurology, San Diego, CA, USA; Abril 2006) describen la administración de BTX-A en pacientes humanos que padecen neuropatía periférica diabética dolorosa por inyección subcutánea en la extremidad inferior usando una dosis fija de 100 U de BTX-A.

Ni Lackovic y colaboradores ni Relja y colaboradores indican que ambos alivios del dolor ipsilateral y contralateral se producen después de la administración periférica de BTX-A en el modelo experimental de neuropatía diabética proporcionado.

25 Finalmente, Antonucci y colaboradores (Journal of Neuroscience, April 2008, vol. 28, no. 14), muestran que BTX-A (BoNT/A) catalíticamente activo es retrógradamente transportado por las neuronas centrales y motoneuronas y es después transcitosado a sinapsis aferentes, en las que se adhiere SNAP-25. Los autores indican que la fracción de toxina botulínica que se extiende retrógradamente en diferentes sistemas parece depender de varios factores, incluyendo la cantidad, tipo y concentración de toxina inyectada así como los niveles de expresión de los receptores relevantes en la vía específica que examinaron.

30 Un efecto analgésico de toxina botulínica en un sitio que está distante de un sitio de inyección local para el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética no ha sido descrito en la técnica anterior.

Compendio de la invención

35 La invención se refiere a neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento del dolor asociado a o causado por la neuropatía diabética, donde dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, donde la administración local no es en el sistema nervioso central (SNC), y donde el dolor se trata en un sitio distante del sitio de administración.

40 La invención además se refiere al uso de la neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento del dolor asociado a o causado por una neuropatía periférica causada por la diabetes (neuropatía diabética), donde dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, donde la administración local no está en el sistema nervioso central (SNC), tratando así dicho dolor en un sitio distante al sitio de administración.

La invención además se refiere a un método de tratamiento del dolor asociado a o causado por una neuropatía periférica asociada con o causada por la diabetes (neuropatía diabética), que comprende administrar localmente a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de neurotoxina botulínica de Tipo A en un sitio que no es el sistema nervioso central (SNC), tratando así dicho dolor en un sitio distante del sitio de administración.

45 En una realización, dicha neuropatía diabética es una neuropatía diabética de una extremidad superior o inferior.

En otra realización, dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, o se administra localmente, en una extremidad. Preferiblemente, dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración, o se administra, en una mano o un pie. Más preferiblemente, dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración, o se administra, en la palma de una mano o la planta de un pie.

50 En una realización, dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, o se administra localmente, en un lado del cuerpo.

La neurotoxina botulínica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, se prepara para administración, o se administra, en un sitio que está distante del sitio dolorido.

Dicha neurotoxina botulínica se prepara preferiblemente para administración, o se administra, no más frecuentemente que una vez al mes o no más frecuentemente que una vez cada seis semanas o no más frecuentemente que una vez cada 8 semanas.

5 Dicha neurotoxina botulínica se prepara preferiblemente para administración local, o se administra, por vía subcutánea, intra-muscular o intradérmica.

En realizaciones, dicha neurotoxina botulínica se selecciona de los tipos de neurotoxina botulínica A, A1, A2, A3, A4.

En otras realizaciones, dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración, o se administra, en una dosis comprendida entre 1 U y 1.500 U, más preferiblemente entre 100 U y 500 U.

Breve descripción de las figuras

10 La Fig. 1 muestra el efecto de la toxina botulínica de tipo A1 en la pata derecha tras la inyección por vía sub-plantar en la pata derecha (ipsilateral) en el modelo de neuropatía diabética inducido por estreptozotocina descrito en el Ejemplo 1.

15 La Fig. 2 muestra el efecto de la toxina botulínica de tipo A1 en la pata izquierda (contralateral) tras la inyección por vía sub-plantar en la pata derecha (ipsilateral) en el modelo de neuropatía diabética inducida por estreptozotocina descrito en el Ejemplo 1.

La Fig. 3 muestra el protocolo de inyección aplicado en el experimento que conduce a los resultados que se muestran en las Figs. 1 y 2.

Descripción detallada de la invención

20 La presente invención se basa en la observación de un efecto analgésico de la toxina botulínica en un modelo *in vivo* de neuropatía diabética en animales. Tras la administración local de la toxina botulínica en la pata derecha de un animal, en el que se había inducido experimentalmente neuropatía diabética, sorprendentemente el efecto analgésico fue también observado en la pata izquierda (es decir, en el lado contralateral, con referencia al sitio de administración).

25 Por tanto, en un primer aspecto, la invención se refiere a la neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética, donde dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, donde la administración local no es en el sistema nervioso central (SNC), y donde el dolor se trata en un sitio distante del sitio de administración.

30 En un segundo aspecto, la invención se refiere al uso de neurotoxina botulínica de Tipo A para el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética, donde dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local, donde la administración local no es en el sistema nervioso central (SNC), y donde el dolor se trata en un sitio distante del sitio de administración.

35 En un tercer aspecto, la invención se refiere a un método de tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética que comprende administrar localmente a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos una neurotoxina botulínica en un sitio que no es el sistema nervioso central (SNC), tratando de este modo dicho dolor en un sitio distante del sitio de administración.

De acuerdo con la presente invención, la administración local de la neurotoxina botulínica en un paciente que sufre de neuropatía diabética conduce a un efecto analgésico en un sitio o área dolorida remota, es decir un sitio o área afectado que está distante del sitio de inyección.

40 En el contexto de la presente invención, el término "dolor" se refiere a cualquier experiencia emocional y sensorial desagradable asociada a daño presente o potencial en nervio o tejido, o descrito por el paciente en tales términos.

El dolor asociado a neuropatías periféricas tales como neuropatía diabética se describe, p.ej., como calambres, ardor, frío helado, congelación, dolor, hormigueo, o como "agujas y alfileres". También se puede observar un retraso en el inicio del dolor en el contexto de las neuropatías periféricas.

45 Un "efecto analgésico", como se usa aquí, se refiere a cualquier alivio, mejoría, atenuación, reducción o disminución del dolor, p. ej. tal como lo experimenta o evalúa el paciente.

De acuerdo con la presente invención, el término "neuropatía diabética" se refiere a cualquier neuropatía periférica causada por o asociada a la diabetes. El término incluye p. ej. polineuropatías o mononeuropatías asociada a la diabetes. Cualquier neuropatía causada por o asociada a la diabetes puede ser tratada de acuerdo con la presente invención, sin tener en consideración la causa de la diabetes subyacente.

50 Preferiblemente, la neuropatía diabética es una neuropatía diabética de una extremidad superior o neuropatía diabética de una extremidad inferior. La neuropatía puede p. ej. ser asimétrica, es decir solo un lado del cuerpo

puede estar afectado, o solo una extremidad. La neuropatía puede también afectar a ambos lados del cuerpo, tal como p. ej. ambas extremidades inferiores. Una realización es una polineuropatía simétrica distal.

En una realización, la neurotoxina botulínica se prepara para administración local en una extremidad.

En otra realización, la neurotoxina botulínica se prepara para administración local en una mano o un pie.

- 5 De acuerdo con la presente invención, además se prefiere preparar la toxina botulínica para la administración en la palma de la mano o en la planta del pie.

En otra realización, la administración local de la neurotoxina botulínica está limitada a un lado del cuerpo. De acuerdo con la presente invención, el efecto analgésico se logra también en el otro lado del cuerpo. Tal efecto analgésico en el lado contralateral (con relación al sitio de administración local) del cuerpo es un ejemplo de tratamiento del dolor en un sitio distante del sitio de administración. Ejemplos de sitios de administración en un lado del cuerpo son p. ej. la administración en la mano izquierda, el pie izquierdo, la mano derecha o el pie derecho.

De acuerdo con la presente invención, la neurotoxina botulínica se administra preferiblemente no más frecuentemente que una vez al mes o no más frecuentemente que una vez cada seis semanas o no más frecuentemente que una vez cada 8 semanas o no más frecuentemente que una vez cada 10 semanas o no más frecuentemente que una vez cada 12 semanas. El término "una vez" al mes o cada 6, 8, 10 o 12 semanas incluye no solo una única administración (p. ej. inyección), sino también inyecciones múltiples en un sitio de administración en un momento dado.

El término "neurotoxina botulínica", en el contexto de la presente invención, se usa intercambiamente con el término "toxina botulínica". Estos términos se refieren a la toxina botulínica que es o bien una proteína libre de las proteínas que lo complejan, también conocida como toxina botulínica "componente neurotóxico", o bien toxina botulínica "altamente purificada". El término "toxina botulínica", como se usa aquí, también se refiere a un complejo proteínico, dicho complejo proteínico p. ej. comprende hemaglutinina (proteína HA) combinada con toxina botulínica.

El término "(neuro)toxina botulínica", dentro de la presente invención, incluye toxinas botulínicas de diferentes tipos, a saber tipos A, A1, A2, A3, A4.

25 El término "toxina botulínica", dentro de la presente invención, además, se refiere a cualquier molécula que posee o retiene la actividad biológica de la toxina botulínica, tal como una proteína de fusión (o quimérica), proteína truncada, fragmento de proteína, o una variante mutada de la toxina botulínica tal como una proteína que tiene uno o más aminoácidos añadidos, eliminados o reemplazados.

El término "proteína de fusión", en el contexto de la presente invención, se refiere a una toxina botulínica o un fragmento o variante mutada de la misma, obtenida después de la fusión a, o combinación con, otra molécula, tal como p. ej. un lípido, glicolípido, péptido, polipéptido, proteína, glicoproteína, carbohidrato, polisacárido, ácido nucleico, polietilenglicol, etc. Tales fragmentos, variantes mutadas o proteínas de fusión retienen la actividad biológica de la toxina botulínica.

35 La actividad biológica de la toxina botulínica se refiere p. ej. a la inhibición de la neurotransmisión sobre la sinapsis en la unión neuromuscular, conduciendo a la parálisis muscular o inhibición de la exocitosis, en particular la exocitosis de acetilcolina u otro neurotransmisor.

La actividad biológica de la neurotoxina botulínica está ligada a su actividad proteolítica. Las neurotoxinas botulínicas se ha mostrado que poseen actividades zinc-endopeptidasas altamente específicas dentro de sus sub-unidades ligeras. Dependiendo del tipo de neurotoxina, estas se escinden en pequeñas proteínas dentro del nervio, que están involucradas en la liberación de neurotransmisores. La toxina botulínica de los tipos de toxinas A y E escinden las proteínas SNAP-25. La toxina botulínica tipos B, D, F y G escinden proteína de membrana asociada a la vesícula (VAMP, llamada Sinaptobrevina). La toxina botulínica tipo C escinde la proteína syntaxina. Una manera para determinar la actividad biológica de cualquier toxina botulínica es por tanto medir la actividad proteolítica sobre el sustrato relevante mencionado anteriormente. Se conocen en la técnica ensayos que se pueden utilizar para determinar esta actividad y uno de tales ensayos está p. ej. descrito en el documento de Patente WO 95/33850.

Una toxina botulínica para ser usada en el contexto de la presente invención puede p. ej. ser natural, es decir producida por, extraída y purificada de la bacteria clostridia (p. ej. *Clostridium botulinum*). La toxina botulínica puede ser también una proteína recombinante producida en cualquier otro tipo de huésped tal como otras células procarióticas, células eucarióticas, tejidos u organismos.

50 La neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención se elige de neurotoxinas botulínicas tipos A, A1, A2, A3, A4-A.

Las diferentes neurotoxinas botulínicas tipos A, A1, A2, A3, A4-A, A4-B son p. ej. descritas por Jacobson y colaboradores, Applied and Environmental Microbiology 2008, Vol. 74(9), p. 2778-2786.

La neurotoxina botulínica de tipo A1 corresponde a la toxina botulínica que es normalmente llamada toxina botulínica tipo A, sin más distinción del subtipo.

5 De acuerdo con la invención, la neurotoxina botulínica de tipo A1 puede ser o bien un complejo de toxina botulínica A1 y hemaglutinina, o una toxina botulínica de tipo A1 libre de todas las proteínas complejantes (el componente neurotóxico de la toxina botulínica).

El complejo de la neurotoxina botulínica de tipo A1 es comercializado p. ej. bajo los nombres comerciales de DYSPORT® o BOTOX®. La neurotoxina botulínica de tipo A1 libre de proteínas complejantes se comercializa p. ej. bajo el nombre comercial de Xeomin®.

10 Otra neurotoxina botulínica que puede ser usada es la toxina botulínica de tipo B, comercializada bajo el nombre comercial de Myobloc®.

Preferiblemente, la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la presente invención es la toxina botulínica de tipo A1.

La toxina botulínica de tipo A2 se aisló por primera vez a partir de casos de niños que padecían botulismo alrededor del año 1990 (Sakaguchi y colaboradores, Int. J. Food Microbiol. (1990), 11, 231-242).

15 La toxina botulínica de tipo A2 puede ser aislada a partir de las siguientes cepas; Kyoto-F, Chiba-H, Y-8036, 7103-H, 7105-H, KZ1828, NCTC2012 o NCTC9837 (Cordoba y colaboradores, System. Appl. Microbiol. (1995), 18, 13-22; Franciosa y colaboradores, resumen presentado en el 40th Interagency Botulism Research Coordinating Committee (IBRCC) Meeting, Noviembre 2003).

20 De acuerdo con una realización de la invención, la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención es la toxina botulínica de tipo A2 aislada de la cepa *Clostridium botulinum* referenciada y accesible bajo el número NCTC9837, en The National Collection of Type Cultures – Central Public Health Laboratory – London – UK. La cepa NCTC9837 es algunas veces llamada la cepa Mauritius 1955.

25 La toxina botulínica de tipo A2 difiere de la toxina A1, entre otros factores, en su secuencia de aminoácidos, su peso molecular, sus características inmunológicas y genéticas (Kubota y colaboradores, Biochem. Biophys. Res. Commun. (1996), 224 (3), 843-848).

En una realización, la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención puede ser una proteína de fusión combinada con al menos un sacárido o un polisacárido o una mezcla de varios polisacáridos.

Por polisacárido se entiende, dentro del significado de la presente invención, polímeros formados por un cierto número de monosacáridos que tienen la fórmula general: $-[C_x(H_2O)_y]_n-$ (donde y es normalmente x - 1).

30 Se distinguen dos categorías de polisacáridos:

- homopolisacáridos constituidos por el mismo monosacárido;
- heteropolisacáridos formados por diferentes monosacáridos.

De acuerdo con la invención, los polisacáridos pueden ser iónicos y/o no iónicos.

35 Preferiblemente, la composición comprende al menos un polisacárido que comprende predominantemente unidades monoméricas de glucosa.

Como ejemplos de polisacáridos adecuados de acuerdo con el uso de la invención, se puede mencionar almidón, derivados de almidón, y hidroxietil almidón en particular 2-hidroxietil almidón.

Los polisacáridos adecuados de acuerdo con la presente invención pueden estar sustituidos, con radicales alquilo, radicales alcoxi, o también con radicales alquilo asimismo sustituidos con funciones alcohol.

40 De acuerdo con una variante de la invención, la cantidad de polisacárido adecuado de acuerdo con la presente invención es al menos de 1 µg de polisacárido por 1 unidad de toxina botulínica. Dependiendo de la elección del polisacárido, es posible usar al menos 0,5 µg de polisacárido por 1 unidad de toxina botulínica.

Preferiblemente la toxina botulínica usada de acuerdo con la invención se combina con al menos un tensoactivo o una mezcla de varios tensoactivos.

45 Por tensoactivo se entiende dentro del significado de la invención un agente emulsionante o un agente solubilizante.

Dentro del marco de referencia de la invención, los tensoactivos usados pueden ser elegidos de tensoactivos catiónicos, aniónicos o no iónicos.

Preferiblemente la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención se combina con al menos un tensoactivo o una mezcla de varios tensoactivos, elegidos de tensoactivos catiónicos, aniónicos o no iónicos.

Preferiblemente la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención se combina con al menos un tensoactivo elegido de tensoactivos no iónicos del grupo de los polisorbatos.

- 5 Del grupo de los polisorbatos, se pueden mencionar polisorbato 20, polisorbato 21, polisorbato 40, polisorbato 60, polisorbato 61, polisorbato 65, polisorbato 80, polisorbato 81, polisorbato 85, polisorbato 120, polisorbato 80 acetato.

El tensoactivo preferido de acuerdo con una variante de la invención es el polisorbato 80.

- 10 De acuerdo con la presente invención, la neurotoxina botulínica se administra preferiblemente por inyección en uno o más sitios en una zona del cuerpo afectada o dolorida. Como los inventores de la presente invención han encontrado sorprendentemente que la toxina botulínica administrada localmente tiene un efecto analgésico distante del sitio de administración, de acuerdo con la presente invención, la administración se puede también realizar en una zona no afectada o no dolorida.

- 15 La administración local puede ser p. ej. administración intramuscular, intradérmica, transdérmica o subcutánea. La administración en el sistema nervioso central (SNC), tal como administración intraespinal o intratecal, están excluidas de la presente invención.

- 20 Si la neurotoxina botulínica va a ser aplicada vía administración transdérmica, preferiblemente puede usarse una toxina botulínica modificada, la cual es un único péptido de cadena lineal que tiene dos tipos distintos de dominios. El núcleo del péptido es una secuencia de dos lisinas consecutivas, cada una de las cuales confiere una carga positiva al péptido. El propósito de este dominio cargado positivamente es formar un enlace no covalente con la superficie de la proteína cargada negativamente a ser transportada. El segundo tipo de dominio es un dominio de transducción de proteínas (PTD) que es responsable del flujo transcutáneo. Hay dos PTDs idénticos en cada extremo de la secuencia peptídica. Estos PTDs son derivados de restos del transactivador de la proteína de transcripción (TAT). Tal molécula de fusión de la toxina botulínica para aplicación transdérmica está disponible p. ej. en Revance Therapeutics, Inc.

- 25 Si la administración local es por inyección, la neurotoxina botulínica puede preferiblemente combinarse con un agente que facilite la inyección, también llamado vehículo de inyección o vector de inyección.

- 30 La dosis de neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la presente invención puede variar dependiendo del método de administración, la edad y el peso corporal del sujeto o paciente que va a ser tratado así como el estado del mismo, y será finalmente decidido por el médico asistente. El término "cantidad de efecto terapéutico" se refiere a una cantidad o cantidad determinada por el médico asistente tal que conduce a un alivio del dolor tratado de acuerdo con la presente invención, es farmacológicamente aceptable y no conduce a ningún efecto colateral serio.

- 35 Preferiblemente, la neurotoxina botulínica usada de acuerdo con la invención se administra en una dosis que comprende entre aproximadamente 0,01 U y aproximadamente 1.500 U, preferiblemente a una dosis comprendida entre aproximadamente 0,1 U y aproximadamente 1.000 U, más preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 U, más particularmente a una dosis comprendida entre aproximadamente 10 y aproximadamente 100 U, p. ej. a aproximadamente 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, o 90 U, cualquiera que sea el tipo de toxina botulínica o cualquiera que sea su origen. La unidad de toxina (U) se define en la parte experimental.

Ejemplo 1

- 40 La medición de la cantidad de neurotoxinas botulínicas usadas en el siguiente ejemplo se realizó usando la LD₅₀. La LD₅₀ corresponde a la dosis semiletal de una sustancia dada, es decir la dosis (o cantidad) que conduce a la muerte del 50% de los animales probados en un grupo. Una unidad de toxina (U) corresponde a la LD₅₀ en ratones por vía intraperitoneal.

En el siguiente ejemplo, el efecto de la toxina botulínica de tipo A se mide en un modelo establecido de neuropatía diabética, el modelo neuropático inducido por estreptozotocina.

- 45 Efecto analgésico de la administración local de toxina botulínica de tipo A en el modelo neuropático diabético inducido por estreptozotocina

La actividad de Dysport[®] (toxina botulínica de tipo A1) fue evaluada *in vivo* en un modelo de neuropatía diabética periférica inducida por la administración de un agente antineoplásico, a saber estreptozotocina (STZ) que causa la destrucción de las células beta de los islotes de Langerhans en el páncreas donde se sintetiza la insulina.

- 50 Ratas macho Sprague Dawley (Charles River) de aproximadamente 280 g fueron guardadas en el interior durante 6 días en condiciones de alojamiento de animales. Se hicieron cuatro grupos de al menos nueve animales.

La neuropatía fue inducida por inyecciones intraperitoneales (IP) de 65 mg/Kg de STZ en el día 0 (DO). El nivel de azúcar en sangre de las ratas fue medido 2 días después de la administración de STZ para seleccionar las ratas diabéticas con un nivel de azúcar en sangre > 300 mg/dl.

5 Antes de la primera inyección, las ratas fueron numeradas y pesadas y la nocicepción fue evaluada después de un estímulo mecánico del aumento de la presión; la inducción de una presión inicial (210 g/mm²) en las dos patas traseras de las ratas se realizó usando un medidor de analgesia (fabricante: Ugo Basile, Varese, Italy) de acuerdo con el método de Randall-Selitto (RS). Estas medidas hacen posible definir los valores basales antes del desarrollo de la neuropatía (D-1). Los datos se expresan en g/40 que corresponde a la medida directa de acuerdo con la hoja de cálculo del medidor de analgesia, que corresponde al cociente de la masa realmente aplicada (g) dividida entre 10 40, es decir [g/40].

La reducción del umbral nociceptivo, que corresponde a la extensión de la neuropatía, se observó 14 días después de la administración de STZ. El umbral nociceptivo de ambas dos patas traseras fue disminuido igualmente. Antes de la administración de Dysport[®], las ratas fueron pesadas, la nocicepción medida y los animales aleatorizados para obtener una reducción equivalente del umbral nociceptivo en los grupos STZ. El Dysport[®] es inyectado por vía 15 subplantar en la pata trasera 3 días, 6 días y 9 días después de su administración.

Resultados

Las unidades (g/40) de las ordenadas de los gráficos mostradas en las Figuras 1 y 2 miden el peso añadido a la pata del animal hasta el umbral del dolor que causa un movimiento de retirada.

20 La Figura 1 muestra el efecto de la inyección subplantar de Dysport[®] en la pata derecha en el modelo de neuropatía periférica diabética inducida por STZ.

El control indica el umbral de dolor tolerado por la rata cuando se aplica una presión creciente en sus patas; el grupo de control fue tratado con vehículo STZ (citrato sódico 0,09 M pH 4,5) por vía intraperitoneal y con vehículo Dysport[®] (NaCl 0,9%) por vía subplantar.

25 El control patológico indica el umbral del dolor tolerado por la rata cuando se aplica una presión creciente en sus patas después de la administración intraperitoneal de STZ y la administración subplantar del vehículo Dysport[®]. Los resultados muestran que el umbral de la presión ha disminuido si lo comparamos con los animales de control, indicando que después de la inyección de STZ la sensibilidad de las patas de las ratas se incrementa después de la aplicación de la presión en ellas.

30 La administración subplantar de una dosis de 20 U/Kg de Dysport[®] en un grupo tratado solo con el vehículo STZ por vía intraperitoneal, indica que el umbral del dolor tolerado por la rata no ha cambiado. La administración s. p. de una dosis de 20 U/Kg de Dysport[®] en un grupo tratado con STZ indica que el umbral del dolor tolerado por la rata en su pata derecha aumenta. El umbral del dolor que sigue al estímulo mecánico aplicado a las patas de la rata se incrementa significativamente.

35 La Figura 2 muestra el efecto del Dysport[®] (toxina botulínica del tipo A) que sigue a su inyección por vía subplantar en la pata contralateral (pata izquierda, no inyectada) en el modelo de neuropatía periférica inducida por STZ.

La administración s. p. de una dosis de 20 U/Kg de Dysport[®] en el grupo tratado con STZ aumenta el umbral del dolor tolerado por la rata en la pata contralateral.

Conclusión

40 Los resultados que se muestran en las Figuras 1, 2 y 3 indican que la administración subplantar de Dysport[®] en la pata derecha de las ratas induce un efecto analgésico no solo en la pata inyectada sino también en la pata contralateral en este modelo de neuropatía diabética. Este experimento por tanto demuestra un efecto analgésico en un sitio distante del sitio de la administración de la inyección.

REIVINDICACIONES

1. Una neurotoxina botulínica de tipo A para uso en el tratamiento del dolor asociado a la neuropatía diabética, donde dicha neurotoxina botulínica se prepara para administración local limitada a un sitio del cuerpo en un sitio que está distante del sitio dolorido,
- 5 donde la administración local no es en el sistema central nervioso (SNC), y donde se logra un efecto analgésico en el lado ipsilateral y en el lado contra-lateral.
2. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha neuropatía diabética es una neuropatía diabética de una extremidad superior.
3. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha neuropatía diabética es una neuropatía diabética de una extremidad inferior.
- 10 4. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración local en una extremidad.
5. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración local en una mano o un pie.
- 15 6. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración en la palma de una mano o en la planta de un pie.
7. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración no más frecuentemente que un vez al mes o no más frecuentemente que una vez cada seis semanas o no más frecuentemente que una vez cada 8 semanas.
- 20 8. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicha administración local se selecciona de administración sub-cutánea, intramuscular, intradérmica o transdérmica.
9. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la neurotoxina botulínica de Tipo A es una toxina botulínica de tipo A1.
- 25 10. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración de una dosis comprendida entre 1 U y 1.500 U.
11. La neurotoxina botulínica para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, preparada para administración de una dosis comprendida entre 100 y 500 U.

Figura 1

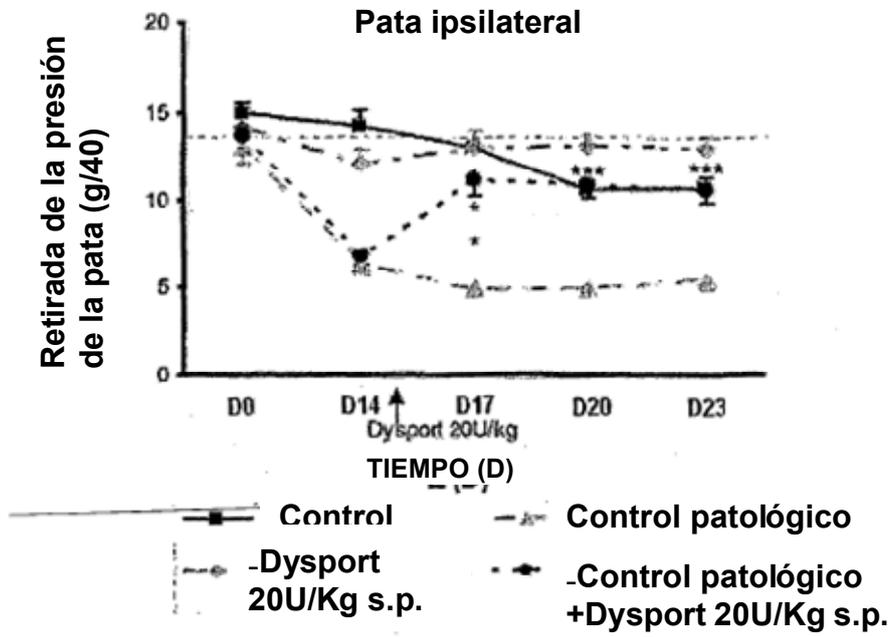


Figura 2

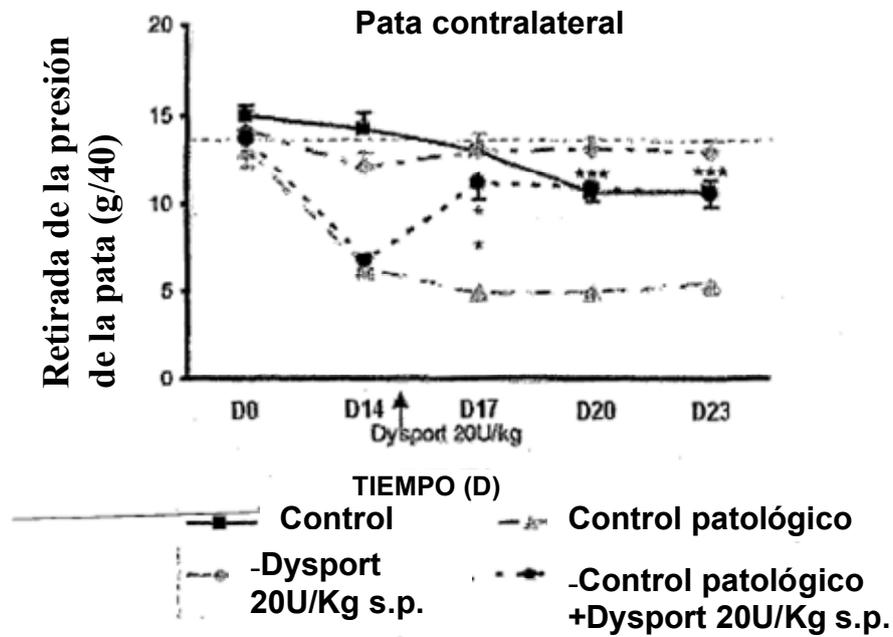


Figura 3:

