

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 669 694**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00	(2006.01)
A61K 31/565	(2006.01)
A61K 31/57	(2006.01)
A61K 31/573	(2006.01)
A61K 31/575	(2006.01)
A61K 31/585	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)
A61P 25/28	(2006.01)
A61P 25/16	(2006.01)
A61P 25/00	(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.10.2010 PCT/US2010/053201**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.04.2011 WO11049948**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.10.2010 E 10768168 (6)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.04.2018 EP 2490680**

54 Título: **Neuroprotección y reparación de mielina usando Nestorone®**

30 Prioridad:

19.10.2009 US 279320 P

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

28.05.2018

73 Titular/es:

**THE POPULATION COUNCIL, INC. (100.0%)
One Dag Hammarskjöld Plaza
New York New York 10017, US**

72 Inventor/es:

**SITRUK-WARE, REGINE;
SCHUMACHER, MICHAEL, MARIA HELMUT;
BRINTON, ROBERTA;
EL-ETR, MARTINE;
GHOUMARI, ABDELMOUMAN y
GUENNOUN, RACHIDA**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 669 694 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

Neuroprotección y reparación de mielina usando Nestorone®

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la fecha de presentación de la solicitud provisional de patente de Estados Unidos n.º 61/279.320 presentada el 19 de octubre de 2009.

10 Campo de la invención

La presente invención se refiere al campo de prevención de la degeneración de mielina y neurodegeneración. Más particularmente, la presente invención se refiere al uso de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona (Nestorone®) para su uso en la prevención o el tratamiento de aspectos degenerativos de enfermedades tales como esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Alzheimer (EA) y enfermedad de Parkinson (EP), así como accidente cerebrovascular.

Antecedentes de la invención

20 La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad progresiva e incapacitante del sistema nervioso central (SNC) que afecta a más del doble de mujeres que de hombres (1-4). Las pruebas sugieren que el daño neuronal comienza pronto en la EM (5), con lesión axónica aguda ya presente durante la desmielinización activa. Sin embargo, se sabe que la remielinización se produce en la EM (6, 7) donde ofrece protección frente a la pérdida de axones (8). En efecto, no puede observarse daño axónico significativo en placas remielinizadas (5). Los axones se vuelven menos
25 receptivos a la remielinización según avanza la EM. Además, un accidente cerebrovascular es un incidente cerebrovascular que también conduce a daño neuronal. En un modelo experimental de oclusión de la arteria cerebral media transitoria (MCAO) el volumen de infarto inducido por la oclusión fue mucho mayor en ratones privados de receptor de progesterona (ratones con PR inactivado) que en ratones de control intactos.

30 También puede producirse daño neuronal en otros contextos, tales como con un accidente cerebrovascular. Un accidente cerebrovascular es un incidente cerebrovascular que resulta de una interrupción en el riego sanguíneo a células cerebrales. Por tanto, pueden destruirse neuronas debido a su sensibilidad a oxígeno y privación de glucosa, así como por la proliferación progresiva de daño de tejido nervioso de un sitio de infarto. Por tanto, ha habido grandes esfuerzos para tratar un pacientes con accidente cerebrovascular tanto para proteger a las neuronas contra
35 destrucción como para evitar la progresión de lesiones así como apoyar la regeneración de tejido dañado. La progesterona se ha identificado previamente como un agente neuroprotector eficaz. En efecto, la progesterona en sí se produce a una velocidad aumentada en células cerebrales después de que se produzca la lesión. El tratamiento con progesterona también se ha encontrado que es eficaz en la reducción de tamaño de la lesión tras isquemia cerebral en modelos animales de accidente cerebrovascular (18) y se ha encontrado que inhibe lesión cerebral
40 isquémica tras oclusión de la arteria cerebral (19).

Se ha encontrado que progestinas tales como Nestorone® ejercen efectos proliferativos y neuroprotectores en el cerebro (20, 21).

45 Se ha demostrado que la progesterona es útil en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas y se sugirieron progestinas sintéticas derivadas de progesterona, actualmente usadas para anticoncepción o en terapias de reemplazo de hormonas posmenopáusicas (HRT), para beneficios terapéuticos novedosos (22).

Aproximadamente dos tercios de los pacientes con EM recurrente-remitente son mujeres en edad reproductiva. (9)
50 Se sabe que un alto nivel de esteroides sexuales femeninos, tales como el que se produce durante el embarazo, puede ser responsable de la remisión de los síntomas en mujeres con EM. Esto es especialmente cierto durante el tercer trimestre cuando los niveles de estrógeno y progesterona (PROG) alcanzan el pico máximo, mientras que la tasa de recaída aumenta en el periodo de posparto. (9)

55 Las mujeres con EM experimentan cambios en sus síntomas de EM relacionados con el embarazo, el periodo de posparto o la menopausia. En un estudio realizado en Suecia (10), el 40% de las 148 mujeres con EM a las que se entrevistó notificaron un empeoramiento de los síntomas de EM relacionados con la menopausia, y más de un cuarto de las mujeres más jóvenes notificó síntomas disminuidos durante el embarazo. Cada una de tres mujeres notificó síntomas aumentados tras el parto, lo que sugiere que los esteroides sexuales desempeñan un papel en la
60 protección (cuando están presentes en niveles altos durante el embarazo) o el empeoramiento de la enfermedad (cuando disminuyen tras el parto o en la menopausia).

Una estrategia de tratamiento eficaz para estados tales como EM también debe incluir agentes terapéuticos que invierten la desmielinización de los axones con el fin de prevenir una pérdida de axones irreversible. Los estrógenos
65 y la progesterona, hormonas sexuales femeninas, pueden tener efectos beneficiosos en la EM y neuroprotección.

El proceso neurodegenerativo de varias enfermedades del SNC, incluyendo esclerosis múltiple (EM), enfermedad de Alzheimer (EA) y enfermedad de Parkinson (EP) implican neuroinflamación así como neurodegeneración, y su frecuencia aumenta en mujeres tras la menopausia. También están presentes procesos neurodegenerativos similares en pacientes con accidente cerebrovascular, o aquellos que han padecido los efectos de un incidente cerebrovascular.

En cultivos de neuronas del hipocampo primarias tratados con 17β -E2 y progestinas, solos y en combinación, 48 horas antes del ataque con glutamato, estradiol, progesterona, y 19-norprogesterona, solos o en combinación, proporcionaron protección frente a la toxicidad de glutamato. En cambio, el acetato de medroxiprogesterona (MPA) no logró proteger frente a la toxicidad de glutamato. El MPA no sólo fue un agente neuroprotector ineficaz, sino que atenuó la neuroprotección inducida por estrógenos cuando se administró conjuntamente (11). Estos resultados pueden tener implicaciones importantes para el mantenimiento de la función neuronal durante la menopausia y el envejecimiento y para la protección frente a enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Alzheimer seleccionando las moléculas adecuadas para la terapia hormonal.

Se investigó la expresión del receptor de progesterona (PR) y la regulación de la proliferación de células progenitoras neuronales usando NPC derivadas de un cerebro de rata adulta. La proliferación de células progenitoras neuronales (NPC) mediada por progesterona y la regulación concomitante de genes de ciclo celular mitótico constituyen una posible diana terapéutica novedosa para promover la neurogénesis en el cerebro de mamífero (12).

Sumario de la invención

Estos y otros objetos se han realizado ahora mediante el descubrimiento de compuestos de progestina para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en un paciente, en el que una dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas de andrógenos o glucocorticoides, siendo la dosificación farmacéuticamente aceptada de 5 mg/día o menos, mediante la cual se previene o se reduce la neurodegeneración. El compuesto de progestina según la presente invención es 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona (Nestorone®). Por tanto, según la presente invención, se proporciona una dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en un paciente o para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular en un paciente, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas de andrógenos o glucocorticoides, siendo dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de 5 mg/día o menos. En una realización preferida, la dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® comprende desde tan poco como 30 μ g/día absorbidos por el paciente, tal como mediante el uso de implantes, hasta 5 mg/día, tal como mediante el uso de comprimidos de hasta 3 a 5 mg, desde 1 hasta 4,5 mg/día mediante aplicación transdérmica, tal como en forma de un gel, o desde 100 hasta 450 μ g/día. Preferiblemente, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende una dosificación continua proporcionada al paciente. En otra realización, sin embargo, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende una dosificación interrumpida proporcionada al paciente. Preferiblemente, la dosificación interrumpida comprende tres semanas con la dosificación seguido por una semana sin la dosificación.

Según una realización, el uso de Nestorone® incluye simultáneamente tratar al paciente con un compuesto de estrógenos. Preferiblemente, el compuesto de estrógenos comprende estradiol, y en una realización preferida el estradiol comprende desde aproximadamente 10 hasta 150 μ g/día.

Según otra realización, la dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina Nestorone® comprende una forma de dosificación transdérmica.

Según otra realización, el uso de Nestorone® comprende proporcionar la dosificación predeterminada en forma transdérmica seleccionada del grupo que consiste en geles transdérmicos, disoluciones transdérmicas, aerosoles transdérmicos y parches transdérmicos. En otra realización, el uso de Nestorone® comprende proporcionar la dosificación predeterminada en forma transdérmica seleccionada del grupo que consiste en comprimidos intravaginales, geles intravaginales y anillos intravaginales.

Según otra realización, el uso de Nestorone® comprende un implante subcutáneo.

Según la presente invención, se proporciona una dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración o para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular en mujeres posmenopáusicas que comprende tratar las mujeres posmenopáusicas con una dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina que ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir la

neurodegeneración en las mujeres posmenopáusicas, y simultáneamente proporcionar una dosificación predeterminada de estradiol natural, estando la dosificación farmacéuticamente eficaz en el intervalo de entre aproximadamente 100 y 450 µg/día. En una realización preferida, el estradiol se proporciona en cantidades de desde aproximadamente 10 hasta 150 µg/día.

5 En una realización, la dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina comprende una forma de dosificación transdérmica seleccionada del grupo que consiste en geles transdérmicos, disoluciones transdérmicas, aerosoles transdérmicos, parches transdérmicos, comprimidos intravaginales, geles intravaginales y anillos intravaginales.

10 Según la presente invención, se proporciona una dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración presentada en un estado seleccionado del grupo que consiste en esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y accidente cerebrovascular en un paciente que comprende tratar el paciente con una dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina que
 15 ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona con interacción con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir la recaída de dicho estado, en la que la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende 5 mg/día o menos, mediante la cual se previene o se reduce la neurodegeneración.

20 Estudios preliminares en cultivo tisular y modelos animales han mostrado que una clase particular de compuestos de progestina, que incluye Nestorone® (NES), una progestina sintética derivada de 19-norprogesterona, sin acciones androgénicas, estrogénicas o de glucocorticoides, han demostrado tener mayores efectos beneficiosos en la remielinización en modelos *in vitro* en comparación con, por ejemplo, progesterona, así como con ciertos otros
 25 compuestos de progestina. Existen bioensayos que comparan los efectos de diferentes progestinas. Nestorone® no tiene ninguna acción androgénica o estrogénica y tampoco provoca un efecto de glucocorticoide excepto a dosis de 2.000 veces la dosis terapéutica. Las demás progestinas tales como levonorgestrel y MPA inducen respuestas androgénicas, MPA induce tanto respuestas androgénicas como de glucocorticoides, y noretinodrel y noretisterona ejercen respuestas androgénicas y estrogénicas. Además, también se ha demostrado en estudios recientes que NES
 30 estimula la proliferación de células progenitoras neuronales, de nuevo incluso mayor que la progesterona en sí. Estos resultados han conducido al descubrimiento de compuestos de progestina para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en un paciente, en el que una dosificación predeterminada de un compuesto de progestina ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir ninguna respuesta biológica androgénica o
 35 de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir la neurodegeneración. El paciente puede comprender un paciente de sexo masculino o femenino. Además, según la presente invención, se proporciona una dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en un paciente o para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular en un paciente, en la que la dosificación farmacéuticamente eficaz del compuesto de progestina ejerce unión a receptores de progesterona y provoca
 40 respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir ninguna respuesta biológica androgénica o de glucocorticoides, siendo la dosificación farmacéuticamente eficaz de 5 mg/día o menos, junto con un compuesto de estrógenos. En esta realización, el paciente es preferiblemente un paciente de sexo femenino. El compuesto de progestina especificado de esta invención puede aplicarse de diversas maneras, tanto por vía oral como no oral, incluyendo geles, parches, anillos vaginales para
 45 mujeres, en un amplio intervalo de dosificaciones, que oscilan ampliamente de desde tan poco como aproximadamente 30 µg/día absorbidos por el paciente, tal como mediante el uso de implantes, hasta aproximadamente 5 mg/día, tal como mediante el uso de comprimidos de hasta 3 a 5 mg. De manera similar, en el caso de estrógenos, la cantidad administrada puede oscilar entre tan poco como 1 y hasta aproximadamente 2.000 µg al día. También se cree que el uso del compuesto de progestina para su uso en el tratamiento para terapia
 50 menopáusica que incluye dosis diarias de NES entre aproximadamente 100 y 400 µg/día, junto con un estrógeno, específicamente estradiol en cantidades de desde 50 hasta 150 µg/día en formulaciones de gel, dará como resultado una prevención o reducción mejoradas inesperadamente de la neurodegeneración y/o de la degeneración de mielina. La administración también puede llevarse a cabo por vía vaginal, tal como mediante el uso de un anillo vaginal que contiene estas composiciones. La administración puede ser o bien continua o bien secuencial, tal como
 55 administración secuencial de tres semanas de administración continua seguido por una semana de cese de administración.

60 Se ha descubierto adicionalmente que el uso de compuestos de progestina para su uso en estos tratamientos puede no sólo aplicarse a mujeres posmenopáusicas, sino que puede ser útil para el tratamiento en la prevención o la reducción de la neurodegeneración en estados tales como EM, EA, EP y en relación con accidente cerebrovascular.

65 El foco principal de la presente invención se refiere a Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en pacientes, tanto hombres como mujeres. Esto comprende principalmente dosificaciones farmacéuticamente eficaces de Nestorone®, a niveles de dosificación de 10 a 450 µg/día y hasta 5 mg/día o menos con el fin de prevenir o reducir la neurodegeneración.

En una realización, sin embargo, la invención se dirige específicamente a pacientes de sexo femenino. En un aspecto, la progestina se combina con un compuesto de estrógenos, tal como estradiol, de modo que se efectúa en general la prevención o reducción de la neurodegeneración y/o la reparación de mielina junto con o bien anticoncepción o bien terapia hormonal. Por tanto, en relación con mujeres jóvenes premenopáusicas de edad fértil, con o sin estados neurodegenerativos tales como EM, EA, EP o accidente cerebrovascular, la anticoncepción está garantizada, mientras que en mujeres posmenopáusicas, de nuevo con o sin estos trastornos neurodegenerativos, también puede efectuarse tratamiento de terapia hormonal. Por tanto, además de la anticoncepción y/o tratamientos de terapia hormonal, estas combinaciones de composiciones pueden usarse para prevenir o reducir recaídas de EM en mujeres o bien de edad reproductiva o posmenopáusicas o bien durante el periodo de posparto.

En una realización preferida, esto se logra mediante la administración de Nestorone®, y lo más preferiblemente en forma de un anillo vaginal para administrar esta composición en forma de las dosis diarias específicas comentadas anteriormente.

En el caso de mujeres posmenopáusicas, en una realización, se administra Nestorone® en forma de un gel transdérmico, incluyendo de nuevo preferiblemente la combinación de tanto Nestorone® como estradiol. Por tanto, se anticipa que esto puede prevenir o tratar la neurodegeneración en situaciones clínicas de estos estados médicos tales como EM, EA, EP y accidente cerebrovascular. Preferiblemente, las dosis diarias de Nestorone® oscilarán entre 100 y 450 µg/día, de nuevo con o sin terapia de estrógenos asociada en tales mujeres posmenopáusicas. Las dosificaciones de progestina pueden administrarse de manera continua o interrumpida por secuencias de no tratamiento con el fin de permitir una eficacia completa de neuroproliferación y de inducir desprendimiento del endometrio.

Por otro lado, en relación con el tratamiento de mujeres jóvenes premenopáusicas de edad fértil, en una realización se proporciona la administración de Nestorone® a largo plazo continua a tasas de dosificación diarias de aproximadamente 200 µg/día, preferiblemente en forma de un anillo vaginal. De nuevo, esto garantiza anticoncepción con o sin tratamiento de estados neurodegenerativos tales como EM y similares. Además, en vista de la potente acción anovulatoria de Nestorone® en sí, la administración a largo plazo de estas dosificaciones se adapta para prevenir embarazos así como para prevenir recaídas de EM. Por tanto, según esta invención, se da a conocer un nuevo agente anticonceptivo que tiene beneficios para la salud adicionales en contraposición con todos los demás anticonceptivos actuales de estrógeno-progestina que no contienen estas progestinas con propiedades neuroprotectoras que van a usarse en la mayoría de las mujeres.

Según una realización preferida, se proporciona una composición que incluye una dosis diaria de Nestorone® para aplicación transdérmica, preferiblemente en forma de un gel, que contiene entre aproximadamente 1 mg y 4,5 mg de Nestorone® aplicado por vía transdérmica (absorción del 10% que da como resultado aproximadamente de 100 a 450 µg/día de Nestorone®) que puede administrarse solo, o que puede combinarse, preferiblemente antes de su uso, para terapia menopáusica, con estradiol, aplicado por vía transdérmica a desde 0,5 hasta 1,5 mg, o desde 50 hasta 150 µg/día. En una realización preferida en la que se emplea un anillo vaginal, la dosis diaria de Nestorone® es de entre aproximadamente 100 y 300 µg/día o bien solo, o en combinación con estradiol, preferiblemente a dosis de entre 10 y 50 µg/día. En esta realización, estas dosificaciones pueden aplicarse o bien de manera continua o bien secuencial, tal como bajo un régimen de tres semanas con y una semana sin.

Según otra realización, se proporciona Nestorone® a mujeres posmenopáusicas, con o sin trastornos neurodegenerativos, para inducir proliferación de células progenitoras neuronales proporcionando unidades de dosificación diarias que comprenden Nestorone® en cantidades de dosificación suficientes para inducir proliferación de células progenitoras neuronales.

La presente invención también tiene claramente una aplicación general para tanto hombres como mujeres específicamente Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración o degeneración de mielina en un paciente. Por tanto, esto incluye una dosificación farmacéuticamente eficaz de 5 mg/día o menos de Nestorone® para prevenir o reducir la neurodegeneración. En la realización preferida, la cantidad de Nestorone® utilizada constituirá una dosis diaria de entre 100 y 300 µg/día, aproximadamente de manera preferible 200 µg/día.

La administración de estas dosis de Nestorone®, por ejemplo, puede comprender administración no oral. La administración no oral puede incluir administración transdérmica por medio de geles, aerosoles, parches transdérmicos o en forma de implantes o anillos vaginales. La administración oral de la progestina de la presente invención que es activa por vía oral puede tener lugar en forma de comprimidos, cápsulas, obleas, grageas, pastillas, microgránulos, gránulos, polvo, disoluciones, emulsiones, suspensiones.

El compuesto de progestina específico que puede usarse según esta invención, es Nestorone®. Por tanto, en general, puede usarse Nestorone® para la prevención o reducción de la neurodegeneración y/o para la degeneración de mielina, y/o para el tratamiento de condiciones tales como EM, EA, EP o accidente cerebrovascular.

Tal como se comentó anteriormente, la dosis diaria de la progestina según la presente invención se selecciona con el fin de ejercer unión a los receptores de progesterona y para provocar respuestas biológicas inducidas por progesterona sin inducir ni respuestas biológicas androgénicas ni de glucocorticoides.

5 Según una realización preferida de la presente invención, se proporciona un nuevo agente anticonceptivo con beneficios para la salud adicionales en contraposición con todos los anticonceptivos actuales de estrógeno-progestina que no contienen tal progestina con propiedades neuroprotectoras que van a usarse en la mayoría de mujeres.

10 **Breve descripción de los dibujos**

La figura 1 es una representación gráfica que compara Nestorone® con progesterona y el favorecimiento de la mielinización dependiente de la dosis;

15 la figura 2 es una representación gráfica que compara mielinización con Nestorone®, lisolecitina y RU486;

la figura 3 es una representación gráfica del efecto de las progestinas sobre la proliferación de células progenitoras;

20 la figura 4 es una representación gráfica de diversas progestinas referenciales sobre la proliferación de células progenitoras;

la figura 5 es una representación gráfica de diversas progestinas respecto a la eficacia neuroprotectora;

25 la figura 6A es una representación gráfica referencial que compara la regeneración de NPC de norgestimato con respecto a progesterona;

la figura 6B es una representación gráfica que compara la regeneración de NPC de Nestorone® en comparación con progesterona;

30 la figura 6C es una representación gráfica referencial que compara la regeneración de NPC de noretinodrel en comparación con progesterona;

35 la figura 6D es una representación gráfica referencial que compara la regeneración de NPC de noretindrona en comparación con progesterona;

la figura 7A es una representación gráfica que compara la eficacia neuroprotectora de Nestorone® con respecto a progesterona;

40 la figura 7B es una representación gráfica referencial que compara la eficacia neuroprotectora de noretinodrel con respecto a progesterona;

la figura 7C es una representación gráfica referencial que compara la eficacia neuroprotectora de levonorgestrel con respecto a progesterona;

45 la figura 7D es una representación gráfica referencial que compara la eficacia neuroprotectora de norgestimato con respecto a progesterona;

50 la figura 7E es una representación gráfica referencial que compara la eficacia neuroprotectora de acetato de medroxiprogesteronona con respecto a progesterona;

la figura 7F es una representación gráfica referencial que compara la eficacia neuroprotectora de noretindrona con respecto a progesterona;

55 la figura 8A es una representación gráfica que compara la proliferación de NPC en la viabilidad celular con diversas progestinas;

la figura 8B es una representación gráfica que compara la proliferación de NPC en la viabilidad celular con diversas progestinas;

60 la figura 8C es una representación gráfica que compara la proliferación de NPC en la viabilidad celular con diversas progestinas;

la figura 9A es una representación gráfica de la expresión de PCNA de diversas progestinas; y

65 la figura 9B es una representación gráfica del porcentaje de células positivas para TUNEL.

Descripción detallada

La presente invención se basa lo más particularmente en el descubrimiento de las propiedades particulares de determinadas progestinas. Lo más particularmente, estos compuestos de progestina ejercen unión a los receptores de progesterona y provocan respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir sus respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir la neurodegeneración, y dosificación que es no obstante de 5 mg/día o menos. Por tanto, estas progestinas incluyen Nestorone®, Nestorone® de 18-metilo, acetato de nomegestrol, trimegestona, norgestimato, dienogest, drospirenona, acetato de clormadinona, promegestona, retroprogesterona y 17-hidroxiprogesterona. Por tanto, esta clase de progestinas excluye progesterona y levonorgestrel, que interactúan con el receptor de andrógenos, y que requieren una dosificación mayor de 5 mg/día, y generalmente de hasta 10 mg/día o más, para su eficacia. Se prefiere que si el compuesto de progestina comprende acetato de nomegestrol, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende de desde 2,5 hasta 5 mg/día; si el compuesto de progestina comprende trimegestona, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende de desde aproximadamente 0,5 hasta 1 mg/día; si el compuesto de progestina comprende dienogest, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende de desde aproximadamente 2 hasta 3 mg/día; si el compuesto de progestina comprende drospirenona, la dosificación farmacéuticamente eficaz comprende aproximadamente 3 mg/día; si el compuesto de progestina comprende acetato de clormadinona, la dosificación farmacéuticamente aceptable comprende aproximadamente 5 mg/día. Los compuestos de progestina también pueden incluir compuestos de progestina que ejercen unión a los receptores de progesterona y provocan respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin inducir sus respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides. El compuesto de progestina usado en la presente invención es Nestorone®.

Se ha expuesto en el presente documento algunas dosificaciones actualmente preferidas de las progestinas, tales como Nestorone®, que es muy preferido para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración. Sin embargo, está dentro de la experiencia de aquellos expertos en la técnica farmacéutica el determinar con experimentación de rutina qué dosificación de cada una de estas progestinas será necesaria, según la vía particular de administración, para administrar una dosis eficaz de este tipo. Sin embargo, aunque hay muchas de tales variaciones tal como se expone a continuación, se ha encontrado que todos estos compuestos de progestina pueden utilizarse eficazmente a dosificaciones de 5 mg/día o menos, lo cual es considerablemente menos que las dosificaciones eficaces de compuestos tales como progesterona. Se entiende que la dosificación de cada uno de estos compuestos de progestina, tales como Nestorone®, administrado *in vivo* puede depender de la edad, el sexo, la salud y el peso del receptor, el tipo de tratamiento simultáneo, si lo hubiera, la frecuencia del tratamiento, y la naturaleza del efecto farmacéutico deseado. Los intervalos de dosis eficaces proporcionados en el presente documento representan intervalos de dosis preferidos con el intervalo de dosificación global menor de 5 mg/día o menos. Sin embargo, las dosificaciones más preferidas dentro de este intervalo global pueden adaptarse al sujeto individual, tal como se entiende y puede determinarlo un experto en la técnica relevante. Véase, por ejemplo, Berkow *et al.*, eds., *The Merck Manual*, 16ª ed., Merck & Co., Rahway, NJ (1992); Goodman *et al.*, eds., *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8ª ed., Pergamon Press Inc., Elmsford, NY (1990); Katzung, *Basic and Clinical Pharmacology*, Appleton & Lang, Norwalk, CN (1992); Avery's *Drug Treatment Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 3ª ed., ADIS Press Ltd., Williams & Wilkins, Baltimore, MD (1987); Ebadi, *Pharmacology*, Little, Brown & Co., Boston, MA (1985); Remington's *Pharmaceutical Services*, 17ª ed., Alphonzo R. Genaro, Mack Publishing Company, Easton, PA (1985).

Las dosificaciones las puede determinar un médico usando estudios de incremento de la dosis convencionales. Puede esperarse que esté dentro de los intervalos anteriores preferidos. Además, aunque esta descripción se ha referido específicamente al componente de progestina altamente significativo, también puede, por supuesto, aplicarse con igual fuerza al componente de estrógeno del mismo.

Además, mediante el término "farmacéuticamente eficaz" quiere decirse que la cantidad es suficiente para efectuar los cambios deseados en el sujeto. La cantidad variará según factores tales como la potencia del fármaco particular, el efecto terapéutico deseado, y el lapso de tiempo durante el cual se pretende que el método de aplicación proporcione tratamiento. Los expertos en las técnicas farmacéuticas podrán determinar tanto los niveles tóxicos como las dosis mínimas eficaces del fármaco según procedimientos convencionales. Por ejemplo, una forma de dosificación adecuada puede prepararse midiendo la elución o tasa *in vivo* de un fármaco dado mediante técnicas analíticas convencionales, por ejemplo, análisis espectroscópicos o de radioinmunoensayo. Puede determinarse la difusión *in vitro* del fármaco a partir de un dispositivo de administración de la presente invención, por ejemplo, mediante los métodos dados a conocer en Chien *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 63, 365 (1974) o mediante los métodos descritos en la patente de EE.UU. n.º 3.710.795.

Los solicitantes han descubierto que estos compuestos de progestina específicos pueden tener propiedades inesperadas en cuanto a su mielinización y también para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración, y en particular el tratamiento de estados tales como EM, EA, EP y accidente cerebrovascular, y además que estas propiedades inesperadas pueden obtenerse junto con el tratamiento, de acción anticonceptiva con estos compuestos que se sabe que son útiles para ese fin.

Por tanto, un uso preferido particular de los compuestos de progestina es junto con un compuesto de estrógenos. Por compuesto de estrógenos un experto en esta técnica apreciará que el estrógeno puede seleccionarse del grupo que consiste en estradiol, etinilestradiol, sulfimatos de estradiol, valerato de estradiol, acetato de estradiol, benzoato de estradiol, estrona, estriol, succinato de estriol, y estrógenos conjugados incluyendo estrógenos equinos conjugados tales como sulfato de estrona, sulfato de 17 β -estradiol, sulfato de 17 α -estradiol, sulfato de equilina, sulfato de 17 β -dihidroequilina, sulfato de 17 α -dihidroequilina, sulfato de equilenina, sulfato de 17 β -dihidroequilenina, sulfato de 17 α -dihidroequilenina, estetrol, o mezclas de los mismos. El más preferido es estradiol.

Se conoce ampliamente la combinación de progestinas con estrógenos con fines anticonceptivos. En efecto, dado que las progestinas solas no pueden usarse normalmente sin desarrollar patrones de hemorragia deficientes en mujeres, ni para uso posmenopáusico, se ha vuelto necesario combinar estas progestinas con estrógenos para estos fines. Además, aunque la idea central de la presente invención se basa en el descubrimiento de que determinadas progestinas tal como se describen en el presente documento poseen propiedades inesperadamente superiores en relación con la neuroprotección y mielinización, y la adición de un estrógeno no es necesariamente para ayudar en ese objetivo, también es posible que el uso de determinados estrógenos en combinación con estas progestinas proporcione resultados inesperados aún mayores en cuanto a neuroprotección, o neuroregeneración y reparación de mielina.

En los experimentos llevados a cabo en cultivo de cortes cerebelosos de ratones o ratas neonatales organotípicos, la progesterona aceleró la mielinización de axones (13, 14). En un estudio, se encontró que tanto la progesterona (PROG) como Nestorone® (NES) promovían la mielinización dependiente de la dosis, tal como se mide mediante inmunorreactividad de la proteína básica de mielina (MBP). Se encontró que NES era significativamente más potente que PROG, ya que NES a 20 μ M era tan activo como PROG a 50 μ M (figura 1). También se demostró que el receptor de progesterona intracelular (PR) puede mediar las acciones promielinizantes de PROG dado que el tratamiento no aumentó la mielinización en cortes cerebelosos de ratones con PR inactivado.

En el mismo modelo animal, se cultivaron cortes cerebelosos hasta que la mielinización fue completa, luego se incubaron durante la noche con lisolecitina (LYSO) para producir desmielinización utilizando una técnica conocida, (15) seguido por 3 días de incubación con NES 20 μ M en medio de cultivo nuevo (el 10% de penetración en los cortes). Los cortes se inmunotñieron para MBP. Tal como se muestra en la figura 1, NES produjo remielinización. Se midió la intensidad de la tinción de MBP en cortes cerebelosos tras la finalización de mielinización normal, tras la desmielinización con lisolecitina, y tras 3 días de incubación con NES a 20 μ M, RU486 a 10 μ M, o NES + RU486. La remielinización estimulada con NES de cortes cerebelosos desmielinizados con lisolecitina puede implicar el receptor de progesterona clásico (PR), dado que RU486 parecía inhibir la actividad de NES en este modelo (figura 2).

Según los estudios *in vitro* descritos anteriormente, parece que la acción de mielinización/remielinización de NES puede medirse por los receptores de progesterona (PR). Por tanto, NES, que es un potente agonista de PR y una de las progestinas más potentes sin actividad androgénica que induce respuestas biológicas relacionadas con PR, parece mejorar la regeneración de mielina incluso mejor que la progesterona, y esto puede volverse un tratamiento de las enfermedades o estados asociados con desmielinización.

En mujeres posmenopáusicas, el aumento de enfermedades neurodegenerativas se ha relacionado con la falta de estrógeno y se ha prestado poca atención al papel de la progesterona. El estudio de la proliferación de células madre neuronales en un modelo de roedor mostró que en la zona subventricular del cerebro estas células se dividen rápidamente y dan lugar a neuroblastos que se convertirán en interneuronas. La progesterona aumenta la proliferación de estas células progenitoras. Entre las diversas progestinas sometidas prueba para la determinación de la proliferación celular, Nestorone® es tan eficaz o incluso más eficaz que la progesterona. El noretinodrel y norgestimato también eran más proliferativos que la progesterona (figura 3). Sin embargo, otras progestinas fueron o bien menos eficaces que la progesterona (NET, LNG) o bien antagonistas (MPA, NETA) sobre la proliferación (figura 4).

El efecto de NES y otras progestinas sobre la plasticidad del SNC y también se ha evaluado la eficacia neuroprotectora frente a la toxicidad de glutamato. Se midió LDH, como ensayo bien aceptado, para determinar tal efecto tras la exposición de las células a glutamato, y se evaluó la viabilidad neuronal bajo la acción de diversas progestinas. La figura 5 muestra que tres progestinas tienen un efecto comparable a la progesterona y a NES 10⁻⁷ M, y PROG ejerció la eficacia más alta mientras que LNG, una progestina androgénica, fue más activo que PROG a dosis menores.

Ejemplo 1

Se llevaron a cabo estudios *in vitro* para determinar la regeneración de células progenitoras neuronales (NPC) en ratas. En las figuras 6A-D en el presente documento se muestran el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) de quimioluminiscencia con 5-bromo-2-desoxiuridina (BrdU) y los resultados. Se determinó la proliferación

celular mediante la incorporación en fase S de BrdU. Después de 4 a 6 horas de inanición (medio sin complementos), se cargaron rNPC con BrdU 10 μ M en presencia o ausencia de bFGF y concentraciones variables de P₄ o progestinas de prueba en medio de mantenimiento no complementado durante 1 d. Entonces se procesaron las rNPC tal como se describió anteriormente (1, 14). Después de restar el valor del blanco (sin carga de BrdU), se analizaron los datos usando ANOVA de un factor, seguido por un prueba de Newman-Keuls *post hoc*. Estos resultados demuestran que a las 24 horas norgestimato fue más potente en la proliferación celular que la progesterona a todas las concentraciones (experimento referencial). Nestorone® y progesterona fueron eficaces de manera comparable a sus concentraciones CE₁₀₀. El noretinodrel produjo efectos comparables a los de la progesterona al intervalo nanomolar bajo pero fue significativamente más eficaz que la progesterona a intervalos nanomolares altos (experimento referencial). La noretindrona fue menos eficaz que la progesterona, y el levonorgestrel y el acetato de noretindrona ejercieron un efecto mínimo o ninguno sobre la proliferación mientras que el acetato de medroxiprogesterona (MPA) inhibió significativamente la proliferación a múltiples concentraciones (experimentos referenciales).

15 Ejemplo 2

Se llevaron a cabo comparaciones de neuroprotección frente a ataques neurodegenerativos. Se determinó la eficacia en relación con la protección de neuronas del hipocampo primarias frente a la degeneración inducida por glutamato excitotóxico. Se trataron previamente los cultivos neuronales hipocámpicas que se hicieron crecer en placas de cultivo de 90 pocillos durante 7d *in vitro* con vehículo solo o compuestos de prueba, seguido por exposición a glutamato 200 μ M tal como se describió previamente (13). Tras la exposición a glutamato, se lavaron los cultivos con solución salina tamponada con HEPES y se sustituyeron por NBM nuevo que contenía los compuestos de prueba o combinaciones. Se devolvieron los cultivos al incubador y se incubaron durante 24 horas antes del análisis de viabilidad neuronal usando liberación de LDH colorimétrica en los medios. Se llevó a cabo análisis de respuesta a la dosis para cada una de las progestinas sometidas a prueba, y se muestran los resultados en las figuras 7A-F. Se calculó la eficacia neuroprotectora tal como sigue: $NE = (V_{\text{muestra}} - V_{\text{glutamato}}) / (V_{\text{subcontrol}} - V_{\text{glutamato}})$. Tal como puede observarse, Nestorone® indujo una eficacia neuroprotectora comparable a la de progesterona. El noretinodrel fue más potente que la progesterona a concentraciones eficaces mínimas mientras que el levonorgestrel mostró una eficacia comparable a la de la progesterona (experimentos referenciales). Se encontró que el norgestimato era menos potente que la progesterona, como lo fueron tanto MPA como noretindrona (experimentos referenciales).

Ejemplo 3

Se investigó la capacidad generalizada de los hallazgos anteriores *in vitro* con respecto al estado *in vivo*. Se llevaron a cabo análisis de proliferación de NPC en ratas y viabilidad celular en ratas hembra ovariectomizadas Sprague-Dawley de tres meses de edad con diversas progestinas. Se determinó la expresión de la proteína del ciclo celular mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western, y los resultados tal como se muestra en la figura 8A indicaron que Nestorone® parecía ser ligeramente superior a la progesterona en cuanto a expresión aumentada de PCNA a nivel de proteína. Por otro lado, levonorgestrel y MPA (referencial), no tuvieron un efecto significativo sobre la expresión de PCNA, mientras que la expresión de la proteína CDC2 se aumentó significativamente con tanto progesterona como Nestorone®, pero no con levonorgestrel y MPA. Con el fin de evaluar el número total de células BrdU+, se fijó el hemisferio hipocámpico contralateral usado para el análisis de proteínas y se procesó mediante análisis FACS. Se determinó el número total de células BrdU+ por cada hipocampo y se normalizó con el del control de vehículo. Se muestran los resultados en la figura 8B demostrando que Nestorone® fue ligeramente superior a la progesterona al aumentar significativamente el número de células Brd+ mientras que el levonorgestrel fue comparable a la progesterona mientras que el MPA (referencial) no tuvo efecto significativo sobre la proliferación celular *in vivo*. Con el fin de medir la viabilidad celular en cuanto a la promoción de la función mitocondrial y la reducción de la expresión de daño oxidativo de la subunidad alfa de ATP sintasa-complejo V (CV α) de la fosforilación oxidativa mitocondrial se evaluó la ruta mediante análisis de inmunotransferencia de tipo Western. Los resultados tal como se muestra en la figura 8C demuestran que Nestorone® aumentó la expresión de CVA incluso más que la progesterona y el levonorgestrel mientras que el MPA (referencial) no ejerció de nuevo ningún efecto significativo sobre los niveles de expresión de CV α .

Ejemplo 4

Se estudiaron los efectos de diversas progestinas sobre la apoptosis usando análisis de inmunotransferencia de tipo Western para determinar el nivel de expresión de Bax, un mediador de la apoptosis mediante traducción a las mitocondrias para liberar factores apoptóticos tales como citocromo c y Bcl-2. Se usó la razón de Bax con respecto a Bcl-2 como indicador de la actividad apoptótica *in vivo*. Los resultados obtenidos demostraron que tanto la progesterona como Nestorone® no tuvieron efecto sobre la razón de la expresión de Bax/Bcl-2, mientras que el levonorgestrel y el MPA (referencial) aumentaron significativamente la razón, demostrando un efecto proapoptótico en este respecto.

Ejemplo 5

También se llevó a cabo el impacto de la combinación de 17β-estradiol (E2) y diversas progestinas sobre la neurogénesis y viabilidad celular *in vitro*. De este modo, se dividieron ratas hembra ovariectomizadas Sprague Dawley que eran adultos jóvenes en seis grupos y recibieron inyección de o bien E2 solo o bien E2 combinado con una de las progestinas. Se aislaron hipocampos 24 horas después para el análisis de inmunotransferencia de tipo Western y citometría de flujo para determinar el impacto del tratamiento sobre la viabilidad celular y neurogénesis respectivamente. Se evaluó el nivel de expresión de PCNA para determinar el impacto de los compuestos de tratamiento sobre la entrada en el ciclo celular requerido para la neurogénesis. Los resultados demostraron que Nestorone® más E2 indujo la mayor magnitud de la expresión de PCNA y proliferación de células progenitoras neuronales (véase la figura 9A).

De manera importante, Nestorone®, en combinación con estradiol, no aumento la muerte de células progenitoras neuronales tal como se demostró por la ausencia de aumento de células positivas para TUNEL, un marcador de apoptosis. En cambio, tanto MPA (referencial) como levonogestrel, en combinación con estradiol, aumentaron significativamente la apoptosis, tal como se demuestra por un aumento de células positivas para TUNEL (véase la figura 9B). Tal como se indicó anteriormente, tanto MPA como levonogestrel aumentaron la proliferación celular.

La presente invención proporciona una cantidad farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración estimulando la neuroregeneración y posiblemente inhibiendo e invirtiendo trastornos neurodegenerativos tales como EM o EA, así como accidente cerebrovascular.

Esto comprende invertir la degeneración de mielina con una dosis de NES en el intervalo de aproximadamente 100 a 450 pg al día administrado o bien mediante un anillo vaginal o bien en un gel vaginal solo o en asociación con estradiol.

En otra realización, se administra NES a mujeres posmenopáusicas que reciben dosis bajas de estrógeno como terapia hormonal y una posible prevención de neurodegeneración.

La presente invención pertenece al descubrimiento de que NES es más activo que la progesterona para estimular células neuronales progenitoras así como la regeneración de mielina. Un aspecto fundamente adicional de la invención es que agentes que pueden unirse a los receptores de progesterona e inducir respuestas biológicas inducidas por PR, serían eficaces para prevenir o invertir la neurodegeneración, para mujeres en edad reproductiva así como mujeres posmenopáusicas.

El término "Nestorone®" (NES) se refiere a un derivado de 19-norprogesterona que ejerce una potente acción gestágena y anovulatoria y no lleva acciones androgénicas o estrogénicas o de glucocorticoides a niveles terapéuticos (16). En particular, se refiere a 16-metilen-17α-acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona, que se había denominado previamente ST1435.

El término "DDU" en el presente documento se refiere a unidades de dosificación diarias en las que DDU está en formulación oral para otros derivados de 19-norprogesterona que son activos por vía oral (no NES), o en un (gel o anillo) vaginal o una formulación transdérmica (gel, aerosol).

El término "agente anticonceptivo" usado en el presente documento se refiere a los medicamentos administrados con el fin de prevenir o reducir la probabilidad de embarazo.

La presente invención se basa en el hecho de que la progesterona estimula la reparación de mielina. Estos efectos están mediados por los receptores de progesterona (PR). La presente invención revela que NES es más activo que PROG y puede regenerar mielina a dosis que también ejercen una eficacia anticonceptiva.

La presente invención también revela que proliferan células progenitoras del tejido neuronal cuando se cultivan con progesterona y además con NES a dosis menores, lo que indica una mayor actividad.

Además, la progesterona y algunas progestinas, especialmente NES y también el norgestimato (referencial, un gonano no androgénico) y el noretinodrel (referencial, una progestina de estrano con actividad estrogénica) estimulan la proliferación de células progenitoras.

Basándose en el efecto superior de NES sobre la estimulación de mielina así como sobre la neuroregeneración, es un fin de la presente invención mejorar los estados médicos de esclerosis múltiple y trastornos neurodegenerativos y al mismo tiempo proporcionar una anticoncepción en mujeres de edad fértil o una terapia hormonal en mujeres que están en la menopausia.

Aplicabilidad industrial

En esta solicitud se da a conocer una dosificación farmacéuticamente eficaz de Nestorone® para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración o mielinización y es particularmente útil en forma de una forma de dosificación no oral o bien solo o bien en combinación con un estrógeno, tal como estradiol. Esta composición se usa en forma

de un producto transdérmico, tal como un gel, disolución, aerosol o parche, o en forma de un anillo vaginal, que puede usarse de ese modo por un paciente para reducir la neurodegeneración y que, cuando se combina con el estrógeno, puede usarse también para anticoncepción y/o terapia de reemplazo hormonal.

5 **Referencias**

1. Confavreux C, Aimard G, Devic M. Course and prognosis of multiple sclerosis assessed by the computerized data processing of 349 patients. *Brain* 1980;103(2):281-300
- 10 2. Confavreux C, Vukusic S. Natural history of multiple sclerosis: a unifying concept. *Brain* 2006;129(Pt 3):606-16
3. Pugliatti M, Rosati G, Carton H, Riise T, Drulovic J, Vecsei L, Milanov I. The epidemiology of multiple sclerosis in Europe. *Eur.J.Neurol.* 2006;13(7):700-22
- 15 4. Dutta R, Trapp BD. Pathogenesis of axonal and neuronal damage in multiple sclerosis. *Neurology* 2007;68(22 Suppl 3) :S22-S31
5. Kornek B, Storch MK, Weissert R, Wallstroem E, Stefferl A, Olsson T, Lington C, Schmidbauer M, Lassmann H. Multiple sclerosis and chronic autoimmune encephalomyelitis: a comparative quantitative study of axonal injury in active, inactive, and remyelinated lesions. *Am.J Pathol.* 2000;157 (1) :267-76
- 20 6. Patani R, Balaratnam M, Vora A, Reynolds R. Remyelination can be extensive in multiple sclerosis despite a long disease course. *Neuropathol.Appl. Neurobiol.* 2007;33(3):277-87
- 25 7. Patrikios P, Stadelmann C, Kutzelnigg A, Rauschka H, Schmidbauer M, Laursen H, Sorensen PS, Bruck W, Lucchinetti C, Lassmann H. Remyelination is extensive in a subset of multiple sclerosis patients. *Brain* 2006;129(Pt 12):3165-72
8. Irvine KA, Blakemore WF. Remyelination protects axons from demyelination-associated axon degeneration. *Brain* 2008;131(Pt 6):1464-77
- 30 9. Confavreux C, Hutchinson M, Hours MM, Cortinovis- Tourniaire P, Moreau T. Rate of pregnancyrelated relapse in multiple sclerosis. *Pregnancy in Multiple Sclerosis Group. N.Engl.J.Med.* 1998;339(5):285-91
- 35 10. Holmqvist P, Wallberg M, Hammar M, Landtblom AM, Brynhildsen J. Symptoms of multiple sclerosis in women in relation to sex steroid exposure. *Maturitas.* 2006 May 20;54 (2) :149-53
11. Nilsen J, Brinton RD. Impact of progestins on estrogen-induced neuroprotection: synergy by progesterone and 19-norprogesterone and antagonism by medroxyprogesterone acetate. *Endocrinology* 2002;143(1):205-12
- 40 12. Liu L, Wang J, Zhao L, Nilsen J, McClure K, Wong K, Brinton RD. Progesterone increases rat neural progenitor cell cycle gene expression and proliferation via extracellularly regulated kinase and progesterone receptor membrane components 1 and 2. *Endocrinology.* 2009 Jul;150(7):3186-96.
- 45 13. Ghomari AM, Ibanez C, El Etr M, Leclerc P, Eychenne B, O'Malley BW, Baulieu EE, Schumacher M. Progesterone and its metabolites increase myelin basic protein expression in organotypic slice cultures of rat cerebellum. *J.Neurochem.* 2003;86(4):848-59
14. Ghomari AM, Baulieu EE, Schumacher M. Progesterone increases oligodendroglial cell proliferation in rat cerebellar slice cultures. *Neuroscience* 2005;135(1):47-58
- 50 15. Birgbauer E, Rao TS, Webb M. Lysolecithin induces demyelination in vitro in a cerebellar slice culture system. *J.Neurosci.Res.* 2004;78(2):157-66
- 55 16. Kumar N, Koide SS, Tsong Y, Sundaram K. Nestorone: a progestin with a unique pharmacological profile. *Steroids* 2000;65(10-11):629-36
17. Sitruk-Ware R. New progestagens for contraceptive use. *Hum.Reprod.Update.* 2006;12(2):169-78
- 60 18. Gibson L, Gray LJ, Bath PM, Murphy SP (2008) Progesterone for the treatment of experimental brain injury; a systematic review. *Brain* 131:318-328
19. Sayeed I, Wali B, Stein DG (2007) Progesterone inhibits ischemic brain injury in a rat model of permanent middle cerebral artery occlusion. *Restor. Neurosci.* 24:151-159
- 65 20. Brinton RD, Thompson RF, Foy MR, Baudry M, Wang J, Finch CE, Morgan DE, Pike CJ, Mack WJ, Stanczyk FC,

Nilsen J (2008) Progesterone receptors: form and function in the brain. *Front Neuroendocrinol* 29:313-339

21. Wang JM, Liu L, Irwin RW, Chen S, Brinton RD (2008) Regenerative potential of allopregnanolone. *Brain Res. Rev.* 57:398-409

5 22. Schumacher M, Sitruk-Ware R, De Nicola AF (2008) Progesteron and progestins: neuroprotection and myelin repair. *Curr. Opin. Pharmacol.* 8(6): 740-746

REIVINDICACIONES

- 5 1. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración en un paciente o para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular en un paciente, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas de andrógenos o glucocorticoides, siendo dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de 5 mg/día o menos.
- 10 2. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, que incluye simultáneamente tratar dicho paciente con un compuesto de estrógenos.
- 15 3. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 2, en la que dicho compuesto de estrógenos comprende estradiol.
- 20 4. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz comprende desde tan poco como 30 μ g/día absorbidos por el paciente, tal como mediante el uso de implantes, hasta 5 mg/día, tal como mediante el uso de comprimidos de hasta 3 a 5 mg, desde 1 hasta 4,5 mg/día mediante aplicación transdérmica, tal como en forma de un gel, o desde 100 hasta 450 μ g/día de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona.
- 25 5. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 3, en la que la dosificación de dicho estradiol comprende desde aproximadamente 10 hasta 150 μ g/día.
- 30 6. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz comprende una dosificación continua proporcionada a dicho paciente.
- 35 7. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz comprende una dosificación interrumpida proporcionada a dicho paciente.
- 40 8. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 7, en la que dicha dosificación interrumpida comprende tres semanas con dicha dosificación seguido por una semana sin dicha dosificación.
- 45 9. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de dicho compuesto de progestina comprende una dosificación transdérmica.
- 50 10. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicho uso comprende proporcionar dicha dosificación predeterminada en forma transdérmica.
- 55 11. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 10, en la que dicha forma transdérmica se selecciona del grupo que consiste en geles transdérmicos, disoluciones transdérmicas, aerosoles transdérmicos y parches transdérmicos.
- 60 12. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 10, en la que dicho uso comprende un producto transdérmico seleccionado del grupo que consiste en comprimidos intravaginales, geles intravaginales y anillos intravaginales.
13. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso según la reivindicación 1, en la que dicho uso comprende un implante subcutáneo.
14. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración o para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular en mujeres posmenopáusicas que comprende tratar dichas mujeres posmenopáusicas con una dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona que ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir la neurodegeneración en dichas mujeres posmenopáusicas, y simultáneamente proporcionar una dosificación predeterminada de estradiol natural, estando dicha dosificación farmacéuticamente eficaz en el intervalo

de 100 a 450 µg/día.

15. Dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona para su uso en el tratamiento de la neurodegeneración presentada en un estado seleccionado del grupo que consiste en esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, accidente cerebrovascular y enfermedad de Parkinson en un paciente que comprende tratar dicho paciente con una dosificación farmacéuticamente eficaz de 16-metilen-17 α -acetoxi-19-norpregn-4-en-3,20-diona que ejerce unión a receptores de progesterona y provoca respuestas biológicas inducidas por el receptor de progesterona sin interactuar con el receptor de andrógenos y sin inducir respuestas biológicas androgénicas o de glucocorticoides a una dosificación suficiente para prevenir o reducir recaídas de dichos estados, siendo dicha dosificación farmacéuticamente eficaz de 5 mg/día o menos.

FIG. 1
NESTORONE PROMUEVE LA MIELINIZACIÓN
EN CULTIVOS DE CORTES CEREBELOSOS ORGANOTÍPICOS

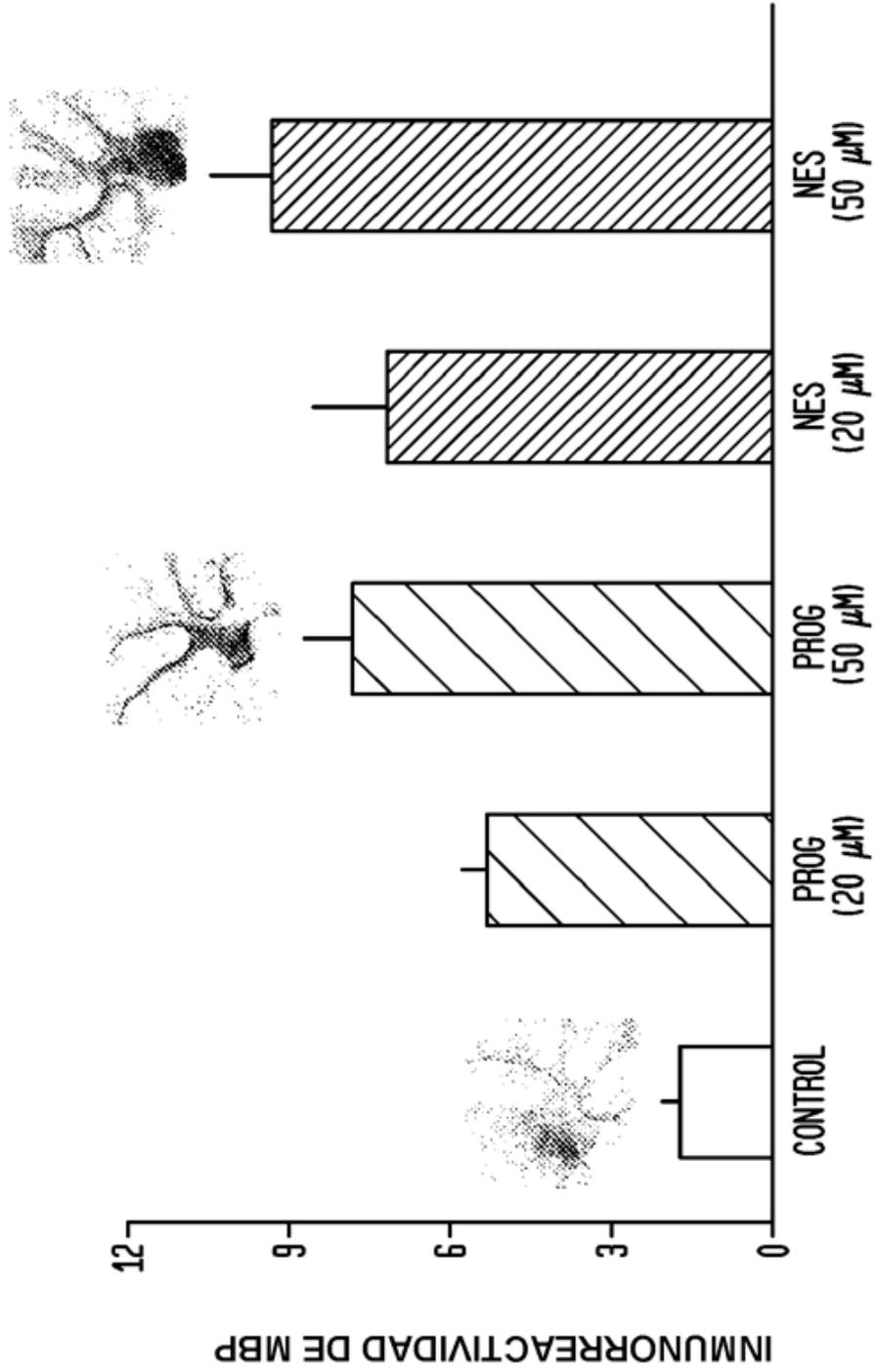


FIG. 2

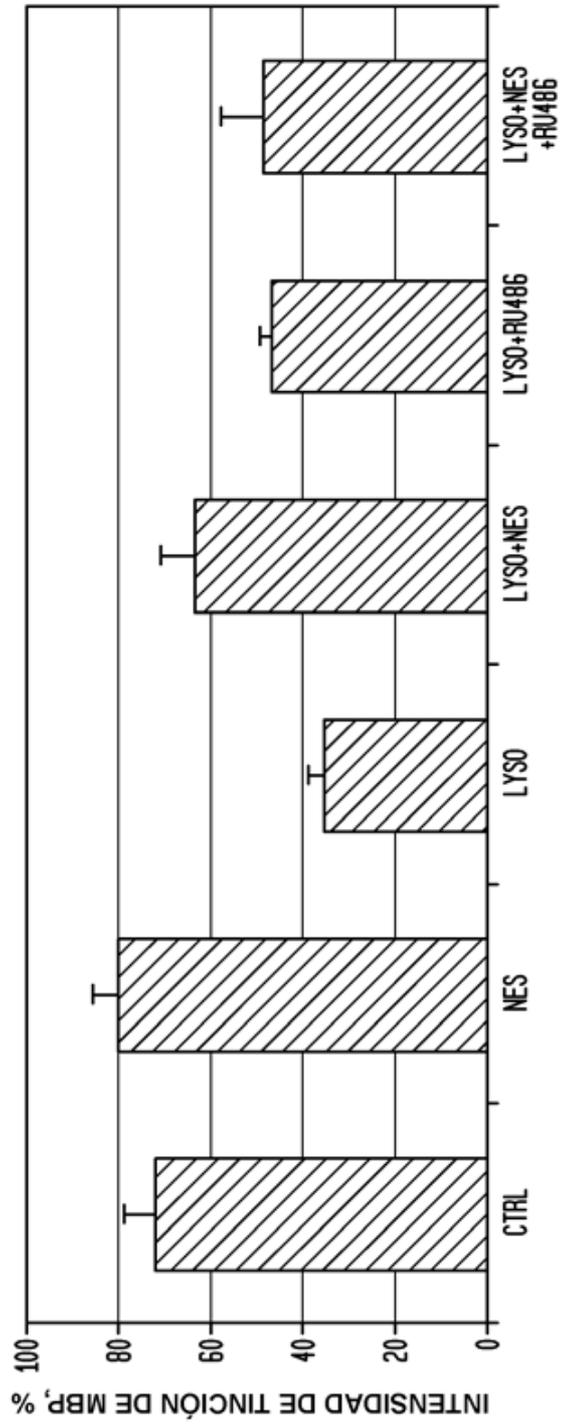


FIG. 3
 EFECTO DE PROGESTINAS QUE FUERON
 MÁS PROLIFERATIVAS QUE PROGESTERONA

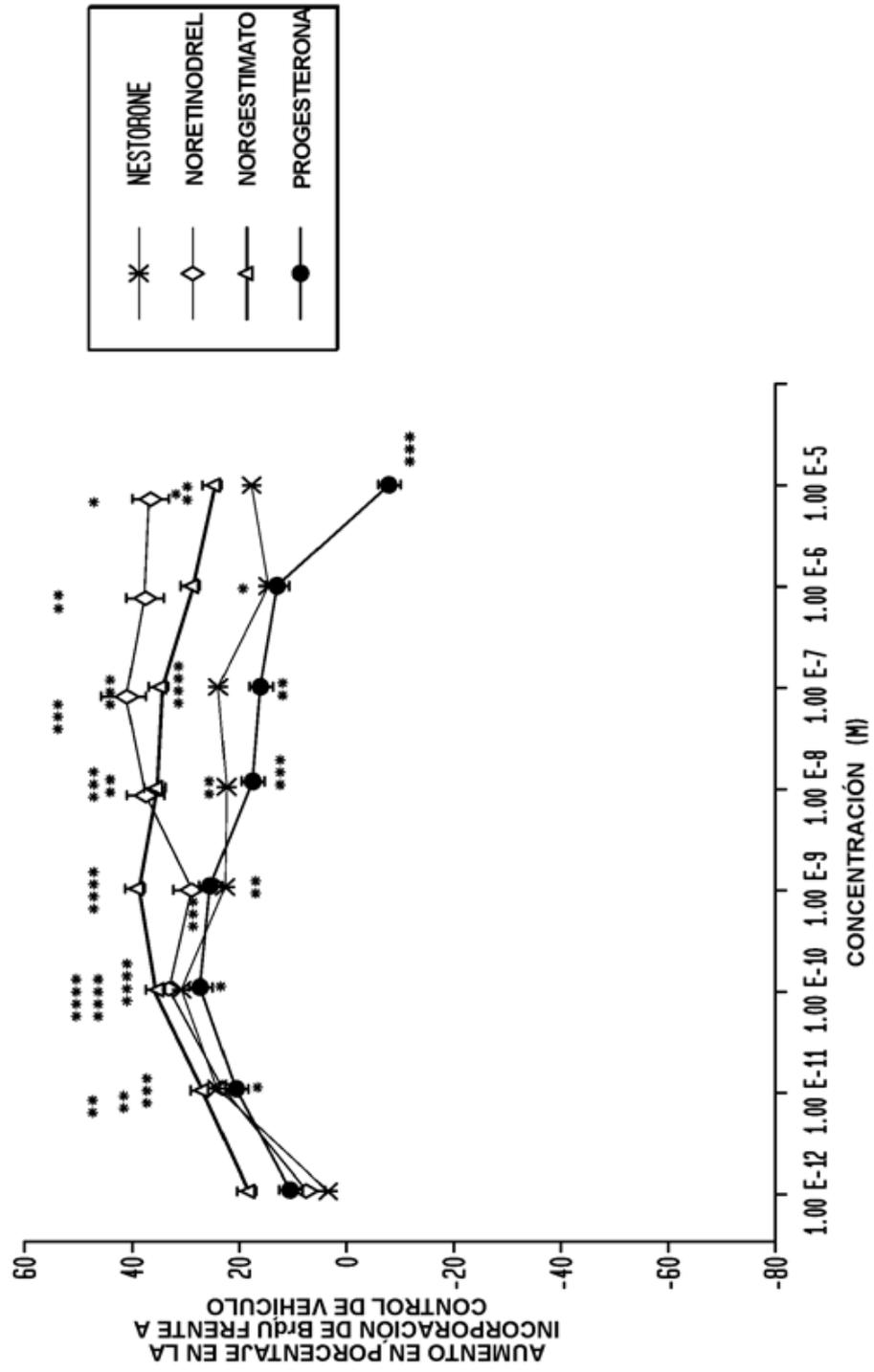


FIG. 4
 PROGESTINAS CON EFECTO NULO O ANTAGONISTA SOBRE LA
 PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS PROGENITORAS NEURONALES

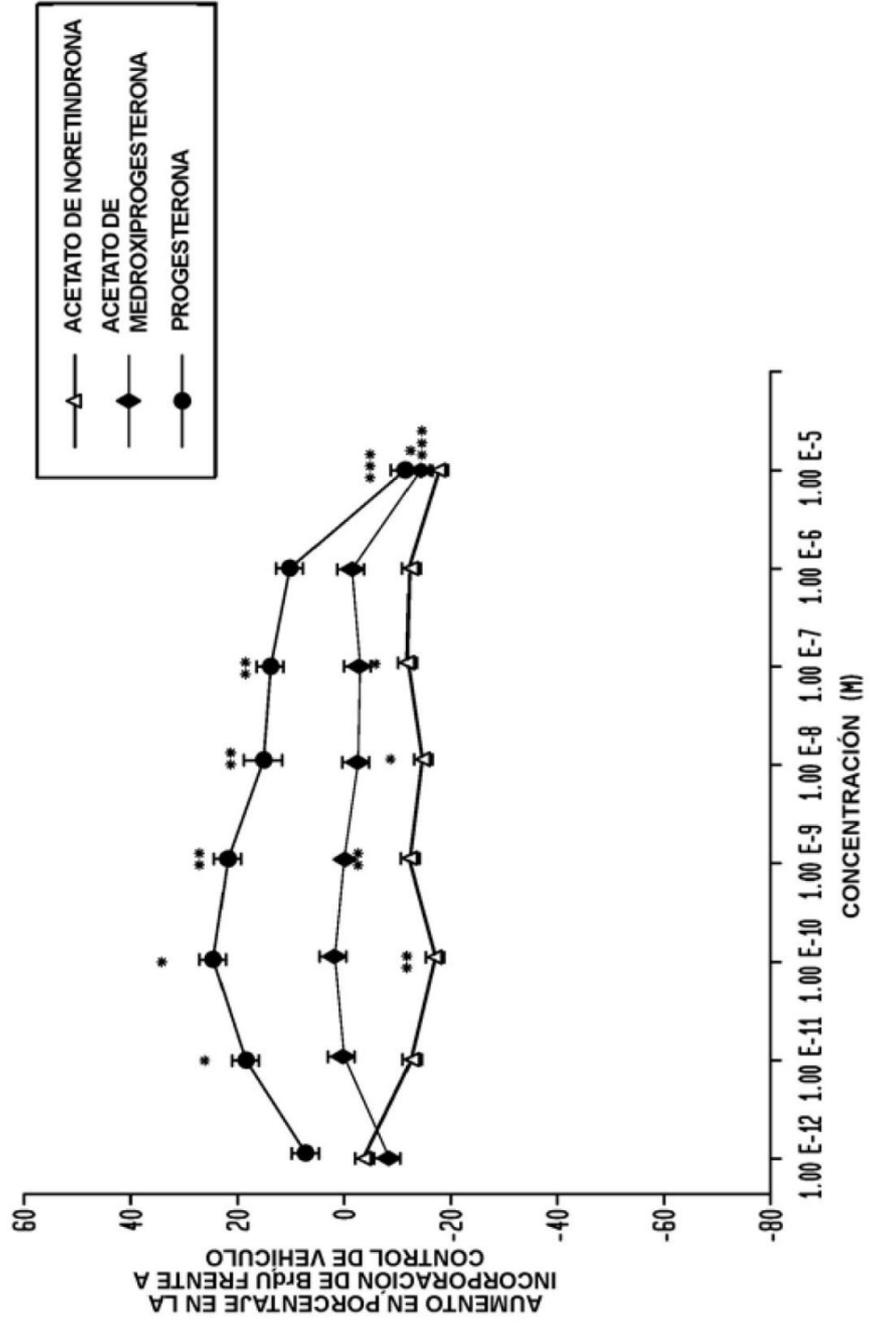


FIG. 5
PROGESTINAS CON EFICACIA NEUROPROTECTORA COMPARABLE A PROGESTERONA

- SE DETERMINÓ EL EFECTO NEUROPROTECTOR DE PROGESTINAS FRENTE A TOXICIDAD DE GLUTAMATO MEDIANTE ENSAYO CON LDH (LACTATO DESHIDROGENASA)
- EFICACIA NEUROPROTECTORA = (Vmuestra-Vglutamato) / (Vcontrol-Vglutamato)

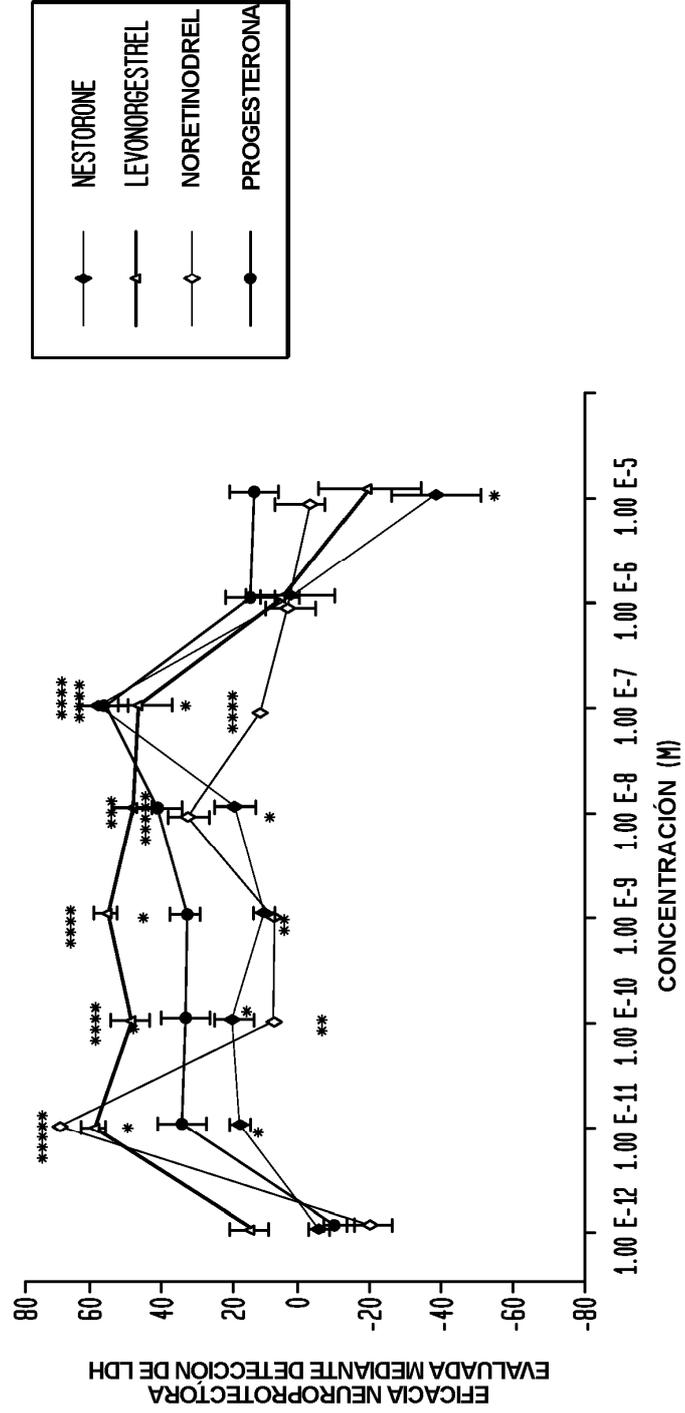


FIG. 6A

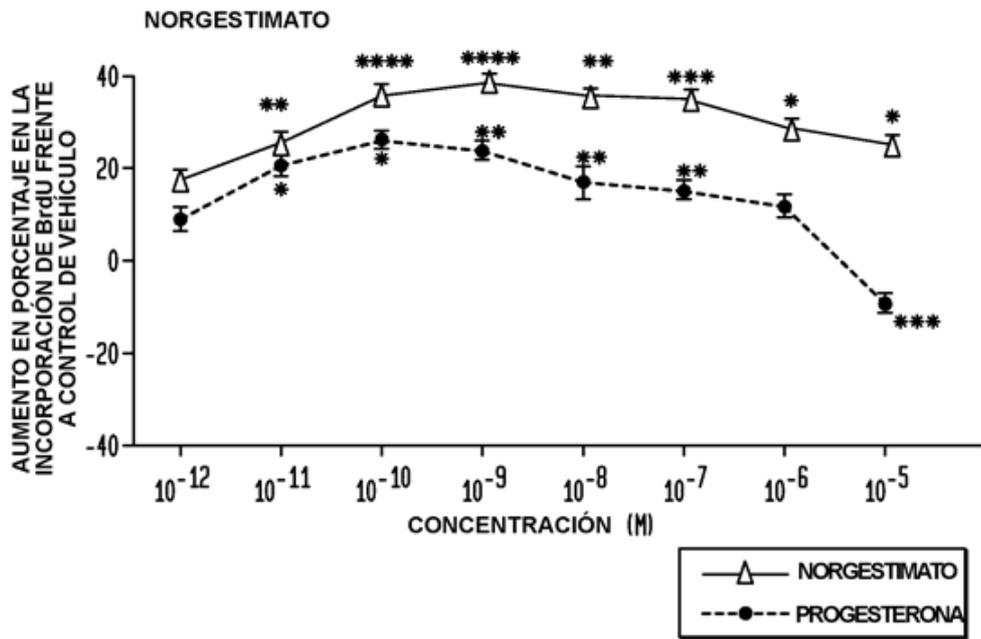


FIG. 6B

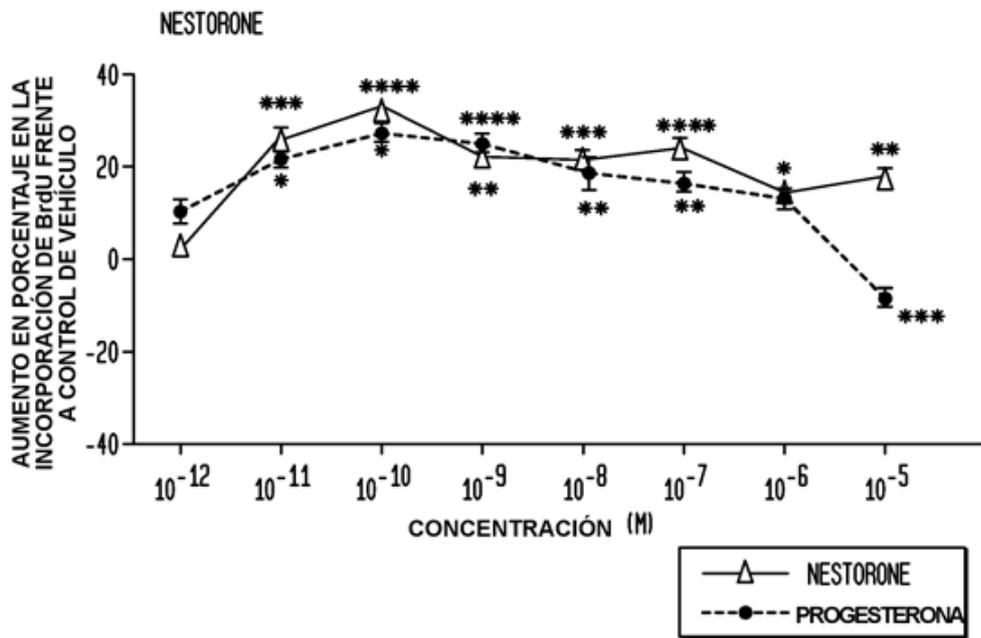


FIG. 6C

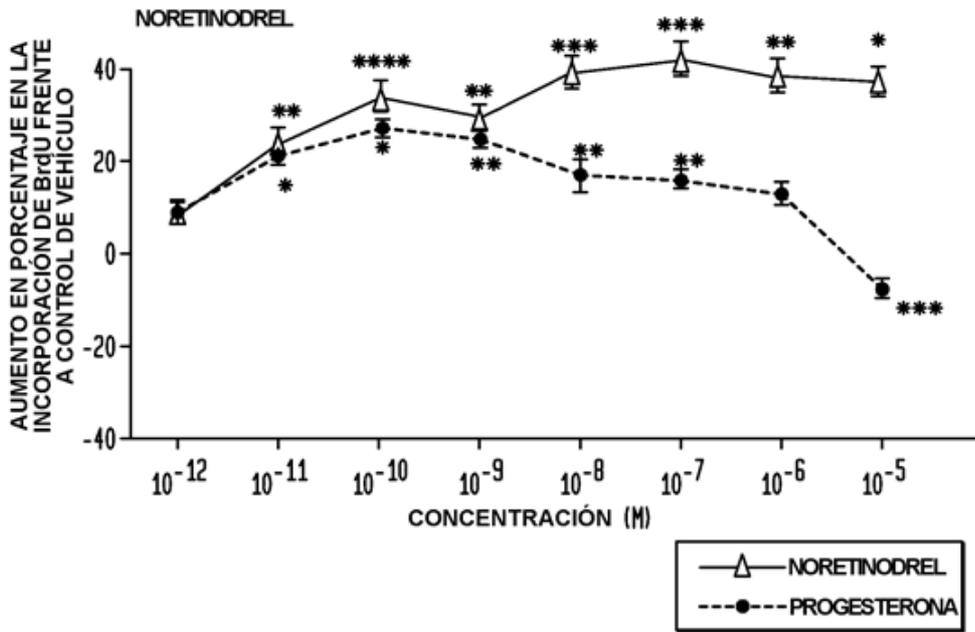


FIG. 6D

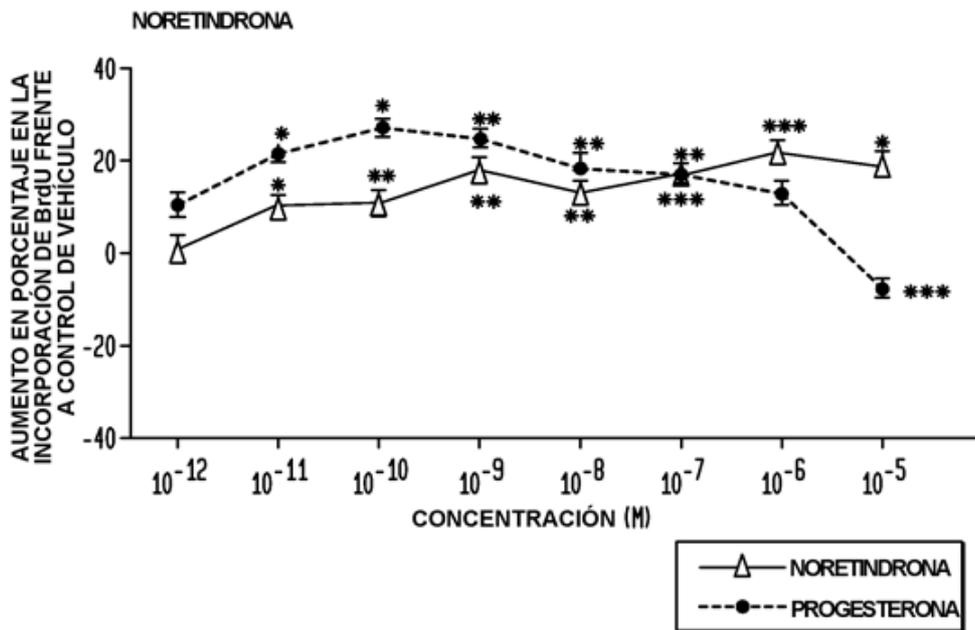


FIG. 7A

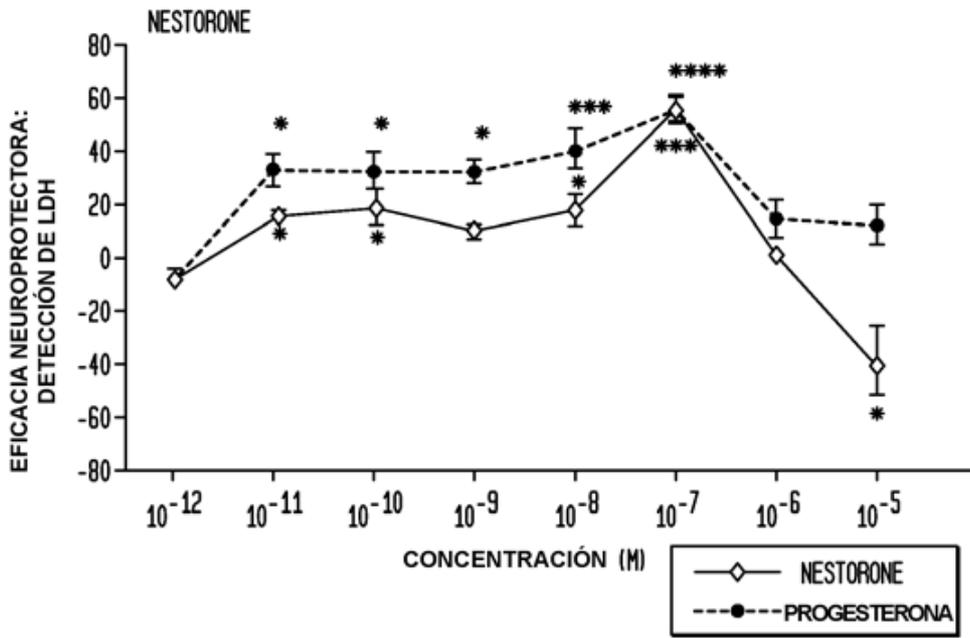


FIG. 7B

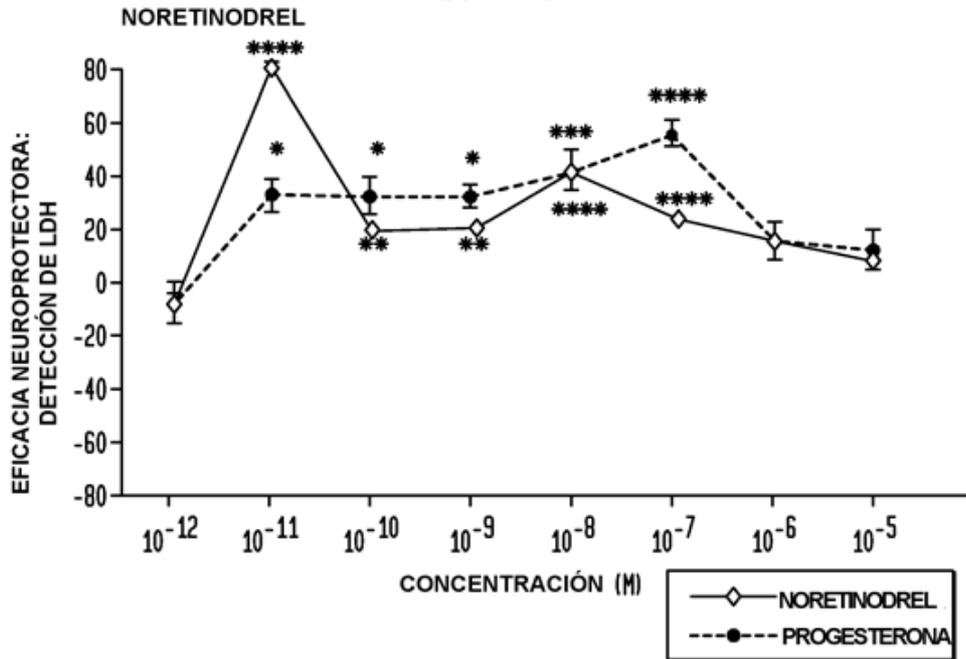


FIG. 7C

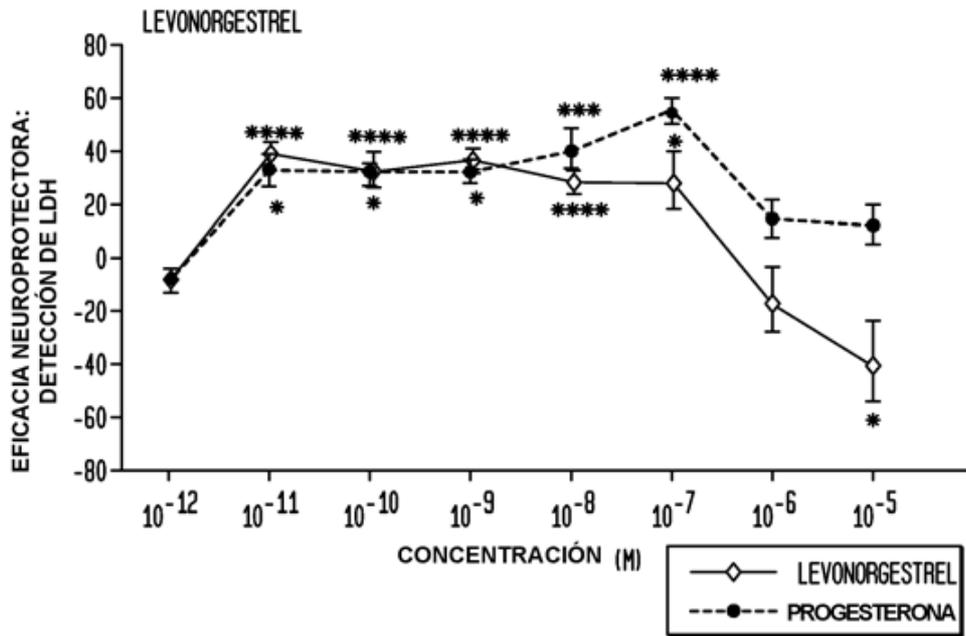


FIG. 7D

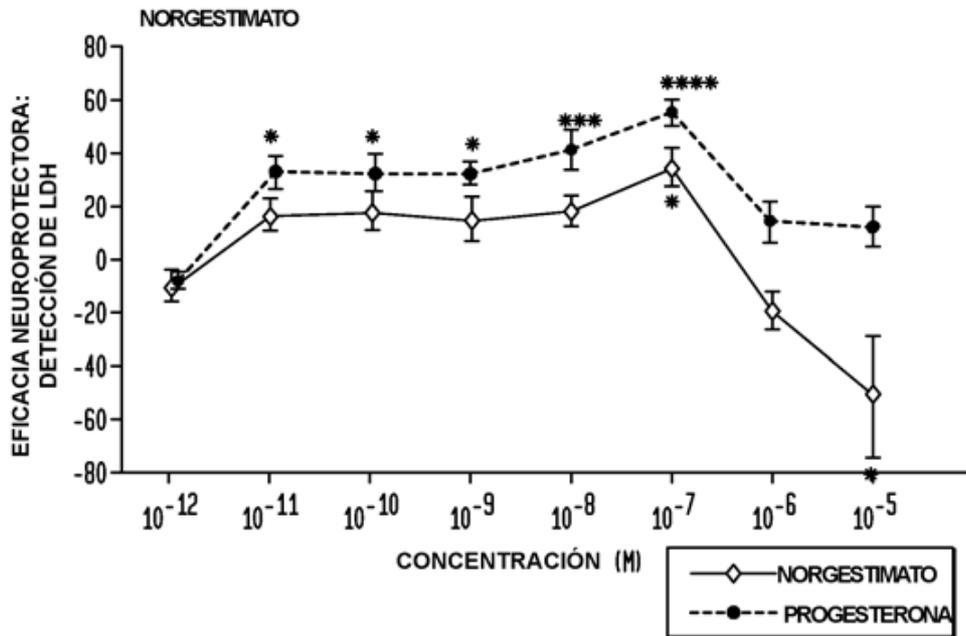


FIG. 7E

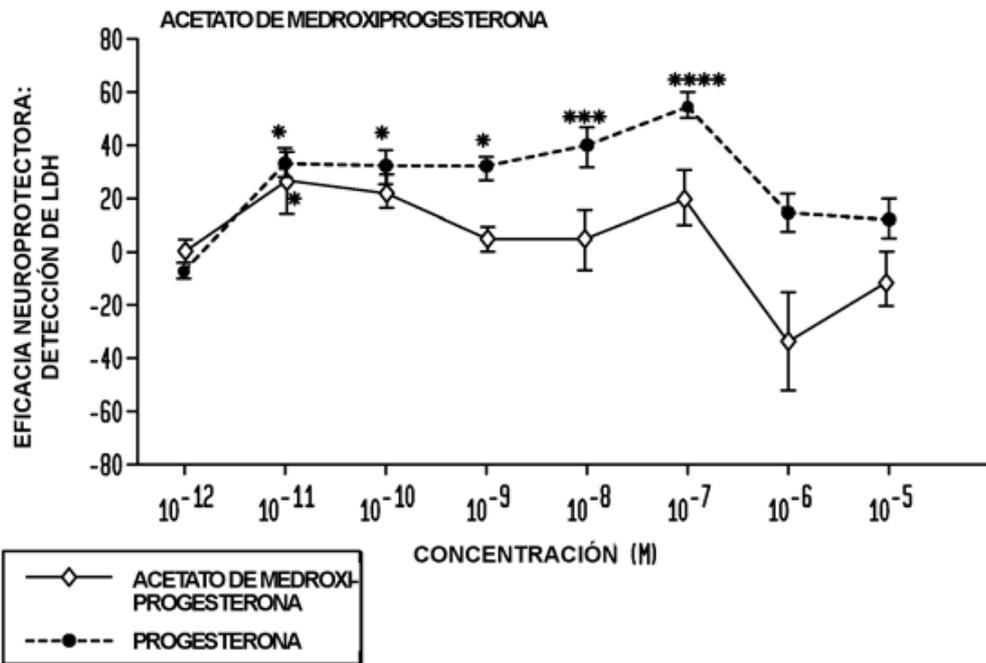


FIG. 7F

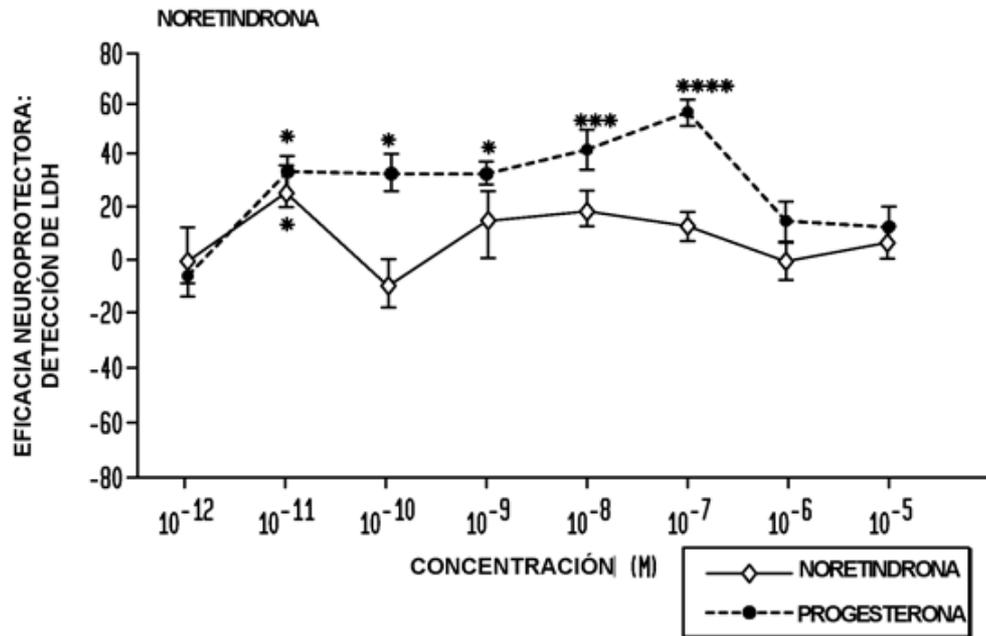


FIG. 8A

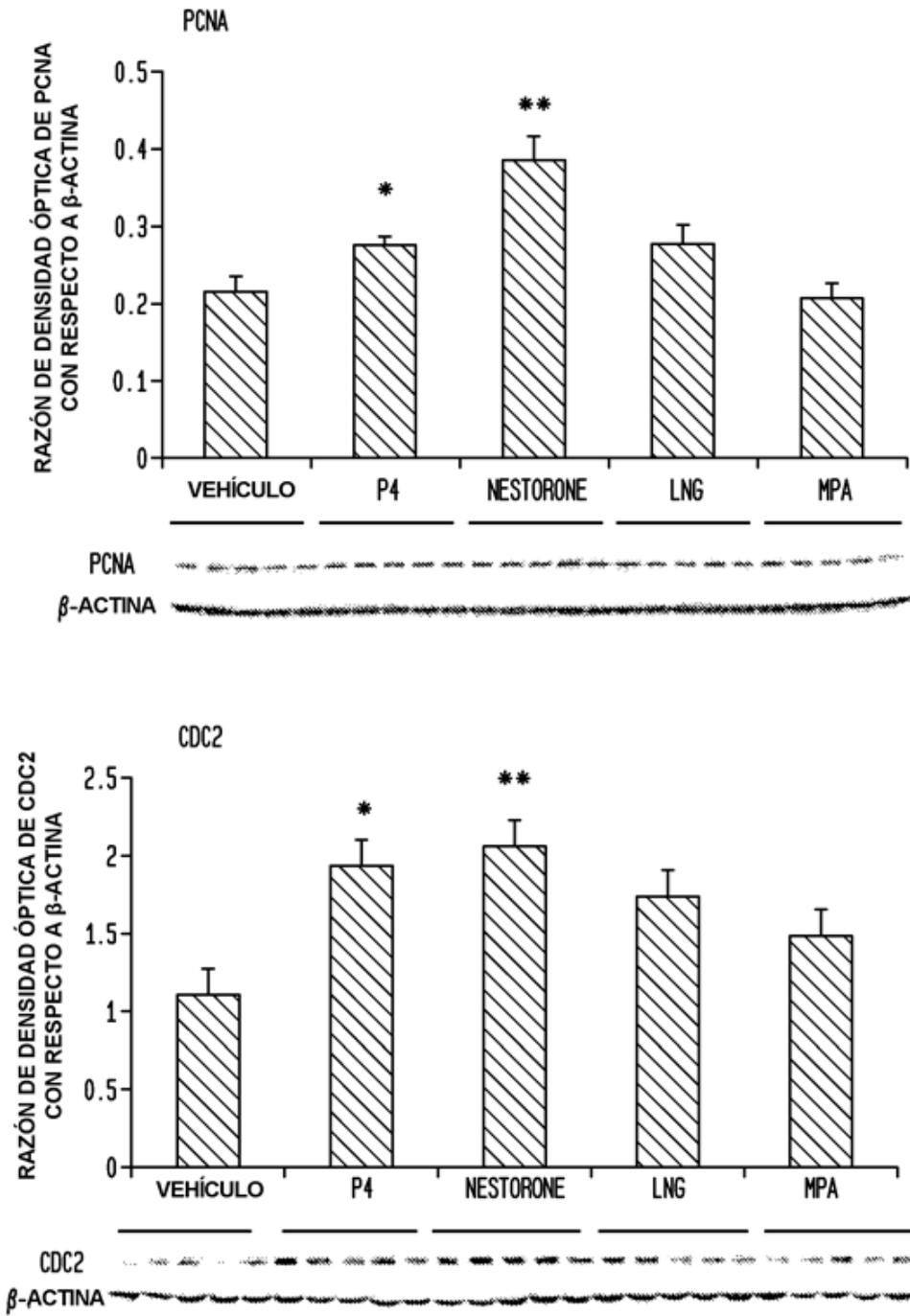


FIG. 8B

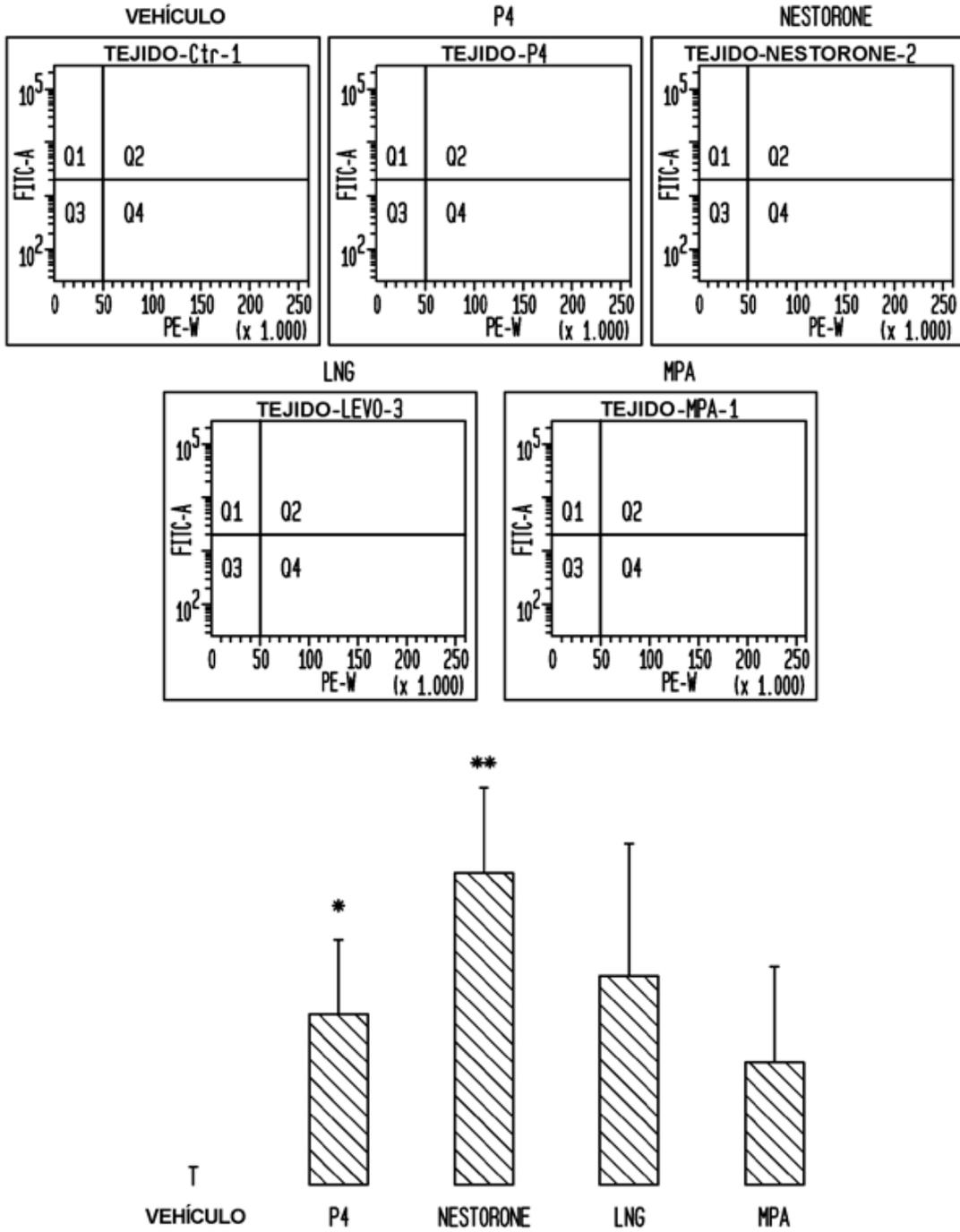


FIG. 8C

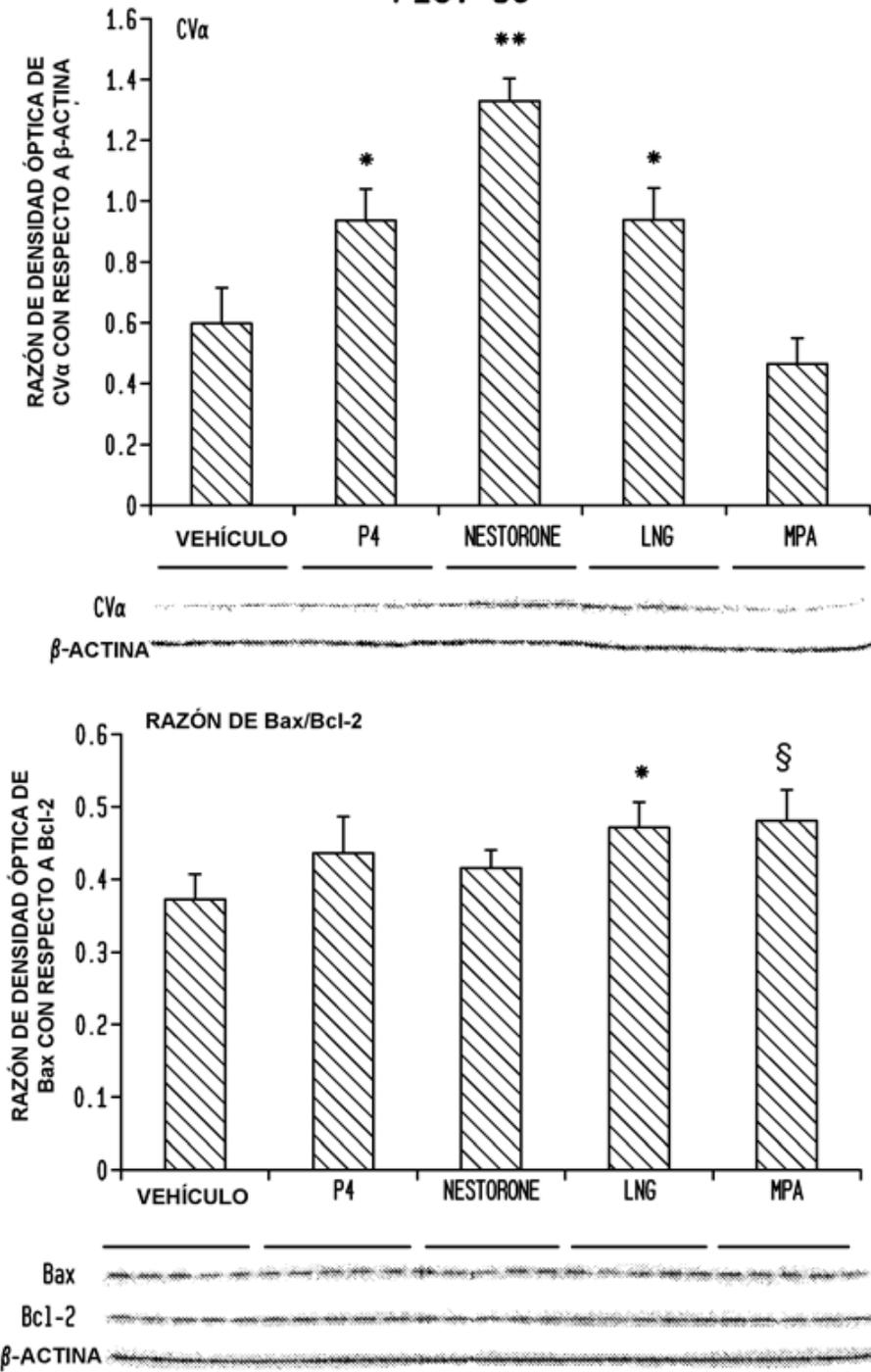


FIG. 9A

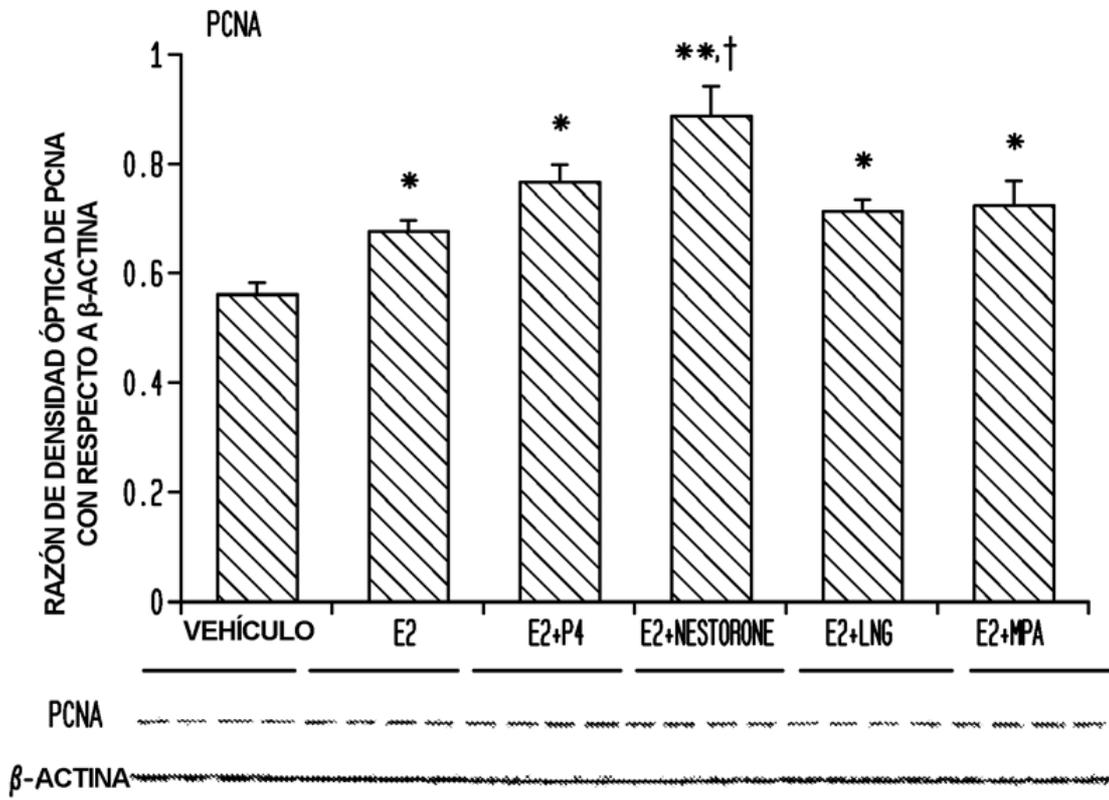


FIG. 9B

