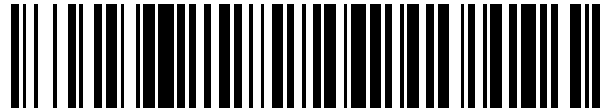


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 716 133**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/13** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.08.2017 PCT/IB2017/054928**

87 Fecha y número de publicación internacional: **15.02.2018 WO18029657**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.08.2017 E 17767933 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 3359146**

54 Título: **Composiciones farmacéuticas y usos dirigidos a trastornos de almacenamiento lisosomal**

30 Prioridad:

**11.08.2016 GB 201613828**

**16.02.2017 GB 201702552**

**10.04.2017 GB 201705762**

**28.04.2017 GB 201706854**

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

**10.06.2019**

73 Titular/es:

**INTRABIO LTD (100.0%)**

**Begbroke Science Park Begbroke Hill Woodstock**

**Road**

**Begbroke, Oxfordshire OX5 1PF, GB**

72 Inventor/es:

**STRUPP, MICHAEL**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 716 133 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**

Composiciones farmacéuticas y usos dirigidos a trastornos de almacenamiento lisosomal

5 Los trastornos de almacenamiento lisosomal (LSD) son un grupo de enfermedades metabólicas heredadas provocadas por defectos en la homeostasis lisosomal. Hasta la fecha, los LSD abarcan más de 70 enfermedades, con una frecuencia clínica conjunta de 1:5000 nacimientos vivos. Estas enfermedades pueden clasificarse en dos grupos principales: trastornos de almacenamiento primarios y que resultan de una deficiencia directa en las rutas de degradación (normalmente trastornos de deficiencia de enzimas lisosomales) y trastornos de almacenamiento secundarios que están provocados por un mal funcionamiento de las proteínas lisosomales posteriores o procesos que tienen un impacto sobre el lisosoma (por ejemplo, defectos en las rutas de tráfico).

15 La patología de los LSD afecta a muchos de los sistemas del cuerpo, pero lo más comúnmente al sistema nervioso. Síntomas comunes son neurodegeneración progresiva que da como resultado incapacidad física y deterioro mental. Tales trastornos progresan generalmente de manera grave y sin remisión. Tienden a manifestarse en los primeros años de vida y la progresión grave da como resultado hospitalizaciones frecuentes. Si se dejan sin tratar, los pacientes a menudo fallecen a la mitad de la adolescencia. También se han descrito pacientes con aparición en la etapa adulta.

20 Lukas *et al.*, *Molecular Therapy* 2015, 23 (3), 456-464 describieron potenciadores enzimáticos para el tratamiento de la enfermedad de Fabry y Pompe.

El documento WO 2011/151685 describe el uso de N-acetil-DL-leucina para el tratamiento de enfermedades oculares.

25 Los documentos FR 2 905 600 y WO 2006/097527 describen el uso de acetil-L-leucina para el tratamiento de vértigo.

30 Los enfoques terapéuticos actuales para LSD son limitados. Hay pocos, si es que los hay, tratamientos curativos y muchas de las opciones terapéuticas apenas mejoran la calidad de vida. Por ejemplo, algunos LSD han respondido a trasplante de médula ósea o terapia de reemplazo de enzimas. Además, se ha notificado algo de beneficio en un ensayo clínico de terapia de reducción de sustratos (SRT) usando un inhibidor de la biosíntesis de glicosíngolípidos (GSL): el fármaco de iminoazúcar, miglustat (Patterson, 2006). Sin embargo, no existen actualmente tratamientos inespecíficos generales que beneficien a todos los LSD. Existe, por tanto, la necesidad de desarrollar tratamientos mejorados de LSD.

40 La presente divulgación aborda esta necesidad y reivindica acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un método de tratamiento de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD en un sujeto que lo necesita. Para los fines de la presente divulgación, el LSD no es Niemann-Pick tipo C.

En una realización de la presente divulgación se da a conocer acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un LSD en un sujeto que lo necesita, en la que el sujeto es asintomático.

45 En otra realización, se da a conocer acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el retraso de la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad.

50 En una realización adicional, la presente divulgación incluye acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD en un sujeto que lo necesita, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.

55 En una realización, la presente divulgación describe acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el retraso de la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo en comparación con la progresión típica de una enfermedad, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.

65 En una realización adicional se da a conocer acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la reversión de la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5

años.

5 En otra realización se da a conocer acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la mejora en un sujeto que lo necesita de un marcador bioquímico de un LSD a lo largo del tiempo, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.

10 En otra realización, la presente divulgación incluye acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la reducción de la gravedad de un LSD o reducción de la gravedad de o eliminación de uno o más síntomas existentes asociados con un LSD en un sujeto que lo necesita.

15 En una realización adicional, la presente divulgación incluye acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la proporción de neuroprotección en un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.

20 Las realizaciones adicionales de la presente divulgación incluyen acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el retraso de la progresión de un trastorno de almacenamiento lisosomal (LSD) en un sujeto. Acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la proporción de neuroprotección en un sujeto que padece un LSD. La acetil-leucina está en forma de racemato, en un exceso enantiomérico del enantiómero L o en un exceso enantiomérico del enantiómero D. Los usos comprenden además  
 25 administrar la acetil-leucina en una dosis de entre 1,5 g y 10 g al día. Además, los usos comprenden administrar la acetil-leucina durante una duración del tratamiento de dos semanas o más. Los usos también pueden comprender administrar la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, antes de la aparición de un síntoma de un LSD. Los usos pueden comprender además administrar otra terapia o agente destinado a prevenir o tratar el LSD. Una realización adicional de la presente divulgación es un kit para su uso en el retraso de la  
 30 progresión de un LSD en un sujeto, comprendiendo el kit medios para diagnosticar o pronosticar un LSD, y acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. El kit comprende medios para diagnosticar o pronosticar un LSD, y acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. Aún otra realización de la presente divulgación es el uso de acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como agente neuroprotector en un sujeto que padece un LSD. En una realización adicional del kit, o el uso, el LSD es síndrome de Smith-Lemli-Opitz (SLOS), un error congénito de la síntesis de colesterol, enfermedad de Tangier, enfermedad de Pelizaeus-Merzbacher, una lipofuscinosis ceroides neuronal, una glicosfingolipidosis primaria, enfermedad de Farber o deficiencia de sulfatasa múltiple. Además, en otra realización del kit, o el uso, la glicosfingolipidosis primaria es enfermedad de Gaucher, enfermedad de Fabry, gangliosidosis GM1, gangliosidosis GM2, enfermedad de Krabbe o leucodistrofia metacromática (MLD). Una realización adicional del kit, o el uso, el LSD es enfermedad de Tay-Sachs,  
 35 enfermedad de Sandhoff, gangliosidosis GM1, enfermedad de Fabry, una mucopolisacaridosis neurodegenerativa, MPS I, MPS IH, MPS IS, MPS II, MPS III, MPS IIIA, MPS IIIB, MPS IIIC, MPS HID, MPS, IV, MPS IV A, MPS IV B, MPS VI, MPS VII, MPS IX, una enfermedad con implicación lisosomal secundaria, SLOS o enfermedad de Tangier. Otra realización del kit, o el uso, el LSD es Niemann Pick tipo A, Niemann Pick tipo B, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Tay-Sachs o mucopolisacaridosis tipo II.

45 Estas y otras realizaciones y características de la presente divulgación resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción y las reivindicaciones.

**Breve descripción de las figuras**

50 La figura 1 muestra fotografías de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados (figura 1A) y sin tratar (figura 1B) a las nueve semanas de edad.

55 Las figuras 2A y 2B muestran datos de peso para ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* en comparación con ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*), con y sin tratamiento con acetil-DL-leucina desde el destete.

60 Las figuras 3A - 3G muestran datos de análisis de la marcha para ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* en comparación con ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*), con y sin tratamiento con acetil-DL-leucina desde el destete. Por ejemplo, se muestran datos de apoyo diagonal, cadencia y secuencia de pasos en las figuras 3A - 3C, respectivamente. Las figuras 3D y 3E muestran datos de las patas delanteras (FP) (media en pie y ciclo de pasos en el panel D; ciclo de trabajo en el panel E). Las figuras 3F y 3G muestran datos de las patas traseras (HP) (media en pie y ciclo de pasos en el panel F; ciclo de trabajo en el panel G).

65 Las figuras 4A - 4H muestran datos de análisis de la función motora para ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* en comparación con ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*), con y sin tratamiento con acetil-DL-leucina desde el destete. Se muestran erguimiento central, actividad, erguimiento y recuento frontal a posterior (FR) en las figuras 4A - 4D,

respectivamente. Se muestran tiempo activo, tiempo móvil, tiempo de erguimiento y recuento de erguimiento manual total en las figuras 4E - 4H, respectivamente.

5 La figura 5 muestra que el tratamiento con acetil-DL-leucina (0,1 g/kg a partir de las 3 semanas de edad) está asociado con un aumento pequeño, pero estadísticamente significativo, de la esperanza de vida en el ratón Npc1-/-.

10 Las figuras 6A y 6B muestran la reducción de volumen lisosomal en células NPC no neuronales tras el tratamiento con acetil-DL-leucina. Las figuras 6C-6H muestran el efecto del tratamiento con acetil-DL-leucina sobre el volumen lisosomal de fibroblastos de pacientes con NPA, MLII, MPS IIIB, aspartilglucosaminuria, MLIIIA y MPS VII, respectivamente.

15 La figura 7A muestra una curva de supervivencia que representan la mortalidad en ratones con Sandhoff y de tipo natural tratados con acetil-leucina o sin tratar. La figura 7B muestra puntuaciones de cruce de barras para ratones modelo de Sandhoff tratados con acetil-leucina y sin tratar. La figura 7C muestra el tiempo de ciclo de pasos para ratones con Sandhoff tratados con acetil-leucina y sin tratar evaluados a las 12 semanas de edad.

20 Las figuras 8A-8C muestran el efecto del tratamiento con acetil-DL-leucina sobre los niveles de glicosfingolípidos (GSL) en fibroblastos de pacientes con gangliosidosis GM2 (enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff y variante AB de enfermedad de Tay-Sachs, respectivamente).

Las figuras 9A y 9B muestran el efecto del tratamiento con acetil-DL-leucina a lo largo del tiempo sobre la puntuación de gravedad clínica global (CSS) y puntuación de incremento de gravedad anual global (ASIS), respectivamente, de diez pacientes con NPC.

25 Las figuras 10A-10J muestran el efecto del tratamiento con acetil-DL-leucina a lo largo del tiempo sobre las subpuntuaciones de CSS para cada uno de los diez pacientes con NPC.

### Descripción

30 La acetil-leucina en forma de racemato (acetil-DL-leucina) y las sales de la misma son eficaces en el tratamiento de vértigo de diversos orígenes, en particular vértigo de Meniere y vértigo de origen inflamatorio (neuritis vestibular) o tóxico. Por ejemplo, la acetil-leucina la comercializa Pierre Fabre Medicament en forma de racemato como medicamento contra el vértigo bajo el nombre comercial Tanganil®. Los resultados clínicos de Tanganil® notificados por diversos autores demuestran una mejora en la sintomatología del vértigo en más del 95% de los casos, 35 incluyendo la desaparición de los ataques de vértigo.

Se ha usado la acetil-DL-leucina en Francia para tratar vértigo agudo desde 1957 y tiene un excelente perfil de seguridad, pero no se ha determinado su seguridad a largo plazo en uso crónico. A pesar de las numerosas hipótesis, incluyendo estabilización del potencial de membrana, sus modos de acción farmacológica y 40 electrofisiológica siguen sin estar claros. (Vibert *et al.* (2001) Eur JNeurosci; 13(4): 735-48; Ferber-Viart *et al.* (2009) Audiol Neurootol; 14(1): 17-25). Un estudio de FDG- $\mu$ PET en un modelo de rata de una laberintectomía unilateral aguda (Zwergal *et al.* (2016) Brain Struct Funct; 221(1): 159-70) mostró un efecto significativo de un enantiómero L, N-acetil-L-leucina, sobre la compensación postural mediante activación del vestíbulo-cerebelo y una desactivación del tálamo posterolateral (Gunther *et al.* (2015) PLoS One; 10(3): e0120891). La mejora sintomática de la ataxia 45 cerebelosa usando acetil-DL-leucina se mostró en una serie de casos con pacientes cerebelosos (Strupp *et al.* (2013) J Neurol; 260(10): 2556-61). Otra serie de casos no encontró beneficio (Pelz *et al.* (2015) J Neurol; 262(5): 1373-5). El análisis cuantitativo de la marcha mostró que acetil-DL-leucina mejoró la variabilidad de la marcha temporal en pacientes con ataxia cerebelosa (Schniepp *et al.* (2015) Cerebellum; 3:8). En un estudio de un mes que incluía 12 pacientes con Niemann-Pick tipo C (NPC), se mostró mejora sintomática de la ataxia (Bremova *et al.* 50 (2015) Neurology; 85(16): 1368-75). Además, un estudio de PET en pacientes con ataxia a los que se les administró acetil-DL-leucina demostró un metabolismo aumentado en el mesencéfalo y tronco encefálico inferior en pacientes que responden (Becker-Bense *et al.* (2015) Abstract EAN).

55 Sin embargo, no se conoce que la acetil-leucina trate los LSD, que progresan generalmente a lo largo del transcurso de años a décadas. La presente divulgación muestra sorprendentemente que puede usarse acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para tratar un LSD en un sujeto que lo necesita, por ejemplo, retrasando la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad, y/o retrasando o revirtiendo la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD, tal como a lo largo de largas duraciones, en comparación con progresión típica de la enfermedad. Estos 60 usos a modo de ejemplo según la presente divulgación, así como otros descritos en el presente documento, fueron totalmente inesperados, puesto que tales beneficios no se habían observado, y no podían haberse deducido a partir de las enseñanzas de la técnica anterior. Los LSD son uno de un grupo heterogéneo de trastornos heredados caracterizados a menudo por la acumulación de macromoléculas no digeridas o parcialmente digeridas que da como resultado disfunción celular (por ejemplo, volumen lisosomal aumentado en comparación con sujetos sanos) y 65 anomalías clínicas. Tal como es evidente por los ejemplos, pero sin querer limitarse a ninguna teoría específica, los presentes inventores descubrieron, entre otras cosas, que, en sujetos aquejados de un LSD, la acetil-leucina puede

mejorar la disfunción celular (por ejemplo, reduciendo volúmenes lisosomales hacia valores de control) y anomalías clínicas.

En consecuencia, la presente divulgación proporciona acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de un LSD o uno o más síntomas de un LSD en un sujeto que lo necesita.

“LSD”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier trastorno que implica disfunción o alteración en el sistema endosomal/lisosomal tardío y la acumulación de macromoléculas no digeridas o parcialmente digeridas. El LSD puede implicar almacenamiento aumentado de lípidos y moléculas no lipídicas.

Un “sujeto”, tal como se usa en el presente documento, puede ser un vertebrado, mamífero o animal doméstico. Por tanto, pueden usarse composiciones según la divulgación para tratar a cualquier mamífero, por ejemplo ganado (por ejemplo, un caballo, vaca, oveja o cerdo), mascotas (por ejemplo, un gato, perro, conejo o cobaya), un animal de laboratorio (por ejemplo, un ratón o rata), o pueden usarse en otras aplicaciones veterinarias. Por ejemplo, el sujeto es un ser humano.

Tal como se usa en el presente documento, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen la referencia en plural.

Los términos “aproximadamente” y “alrededor” significan que son casi iguales que un número o valor al que se hace referencia incluyendo un grado de error aceptable para la cantidad medida dada la naturaleza o precisión de las mediciones. Tal como se usa en el presente documento, los términos “aproximadamente” y “alrededor” debe entenderse generalmente que abarcan  $\pm 20\%$  de una cantidad, frecuencia o valor especificado. Las cantidades numéricas facilitadas en el presente documento son aproximadas a menos que se indique lo contrario, lo que significa que el término “aproximadamente” o “alrededor” puede inferirse cuando no se establezca expresamente.

Los términos “administrar”, “administración” o “que administra” tal como se usan en el presente documento se refieren a (1) proporcionar, dar, dosificar y/o recetar o bien por un profesional sanitario o su agente autorizado o bien bajo su dirección una composición según la divulgación, y (2) poner, tomar o consumir por el paciente o la propia persona, una composición según la divulgación.

Las referencias a “acetil-leucina” en la totalidad incluyen sales farmacéuticamente aceptables de la misma, incluso si no se establece expresamente.

La acetil-leucina puede estar en forma racémica, lo que significa que el compuesto comprende cantidades aproximadamente iguales de enantiómeros. Alternativamente, puede estar presente en un exceso enantiomérico de o bien el enantiómero L o bien el enantiómero D. La acetil-leucina puede estar en forma enantiomérica individual de o bien el enantiómero L o bien el enantiómero D. En una realización, la forma enantiomérica individual es el enantiómero L. Las formas racémicas y enantioméricas pueden obtenerse según procedimientos conocidos en la técnica.

Una “sal farmacéuticamente aceptable” tal como se le hace referencia en el presente documento, es cualquier preparación de sal que es apropiada para su uso en una aplicación farmacéutica. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de amina, tales como N,N'-dibenciletilendiamina, cloroprocaína, colina, amoníaco, dietanolamina y otras hidroxialquilaminas, etilendiamina, N-metilglucamina, procaína, N-bencilfenetilamina, 1-para-cloro-bencil-2-pirrolidin-1'-ilmetilbencimidazol, dietilamina y otras alquilaminas, piperazina, tris(hidroximetil)aminometano y similares; sales de metales alcalinos, tales como litio, potasio, sodio y similares; sales de metales alcalinotérreos, tales como bario, calcio, magnesio y similares; sales de metales de transición, tales como zinc, aluminio y similares; otras sales metálicas, tales como hidrogenofosfato de sodio, fosfato de disodio y similares; ácidos minerales, tales como clorhidratos, sulfatos y similares; y sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, lactatos, malatos, tartratos, citratos, ascorbatos, succinatos, butiratos, valeratos, fumaratos y similares.

La acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede formularse y administrarse a un sujeto según enseñanzas conocidas en la técnica. Por ejemplo, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede formularse como una composición farmacéutica. La composición farmacéutica puede comprender acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un portador farmacéuticamente aceptable. La referencia a la composición farmacéutica abarca el agente activo solo o en forma de una composición farmacéutica.

La composición farmacéutica puede tomar cualquiera de varias formas diferentes según, en particular, la manera en la que va a usarse. Por tanto, por ejemplo, puede estar en forma de un polvo, comprimido, cápsula, líquido, pomada, crema, gel, hidrogel, aerosol, pulverizador, disolución micelar, parche transdérmico, suspensión de liposomas o cualquier otra forma adecuada que pueda administrarse a una persona o animal que necesita tratamiento.

Un “portador farmacéuticamente aceptable” tal como se le hace referencia en el presente documento, es cualquier compuesto conocido o combinación de compuestos conocidos que los expertos en la técnica saben que son útiles en la formulación de composiciones farmacéuticas. Se apreciará que el portador de la composición farmacéutica debe ser uno tolerado por sujeto al que se le administra.

En una realización, el portador farmacéuticamente aceptable puede ser un sólido, y la composición puede estar en forma de un polvo o comprimido. Un portador farmacéuticamente aceptable sólido puede incluir, pero no se limita a, una o más sustancias que también pueden actuar como agentes saborizantes, tampones, lubricantes, estabilizadores, solubilizantes, agentes de suspensión, agentes humectantes, emulsionantes, colorantes, cargas, deslizantes, adyuvantes de la compresión, aglutinantes inertes, edulcorantes, conservantes, colorantes, recubrimientos o agentes disgregantes de comprimidos. El portador también puede ser un material encapsulante. En los polvos, el portador puede ser un sólido finamente dividido que está en mezcla con los agentes activos finamente divididos según la invención. En los comprimidos, el agente activo puede mezclarse con un portador que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas y compactarse en la forma y el tamaño deseados. Los polvos y comprimidos pueden contener, por ejemplo, hasta el 99% de los agentes activos. Los portadores sólidos adecuados incluyen, por ejemplo, fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, azúcares, lactosa, dextrina, almidón, gelatina, celulosa, polivinilpirrolidina, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico. En otra realización, el portador farmacéuticamente aceptable puede ser un gel y la composición puede estar en forma de una crema o similar.

El portador puede incluir, pero no se limita a, uno o más excipientes o diluyentes. Ejemplos de tales excipientes son gelatina, goma arábiga, lactosa, celulosa microcristalina, almidón, glicolato sódico de almidón, hidrogenofosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, dióxido de silicio coloidal, y similares.

En otra realización, el portador farmacéuticamente aceptable puede ser un líquido. En una realización, la composición farmacéutica está en forma de una disolución. Se usan portadores líquidos en la preparación de disoluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, elixires y composiciones presurizadas. La acetil-leucina puede disolverse o suspenderse en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como agua, un disolvente orgánico, una mezcla de ambos o aceites o grasas farmacéuticamente aceptables. El portador líquido puede contener otros aditivos farmacéuticos adecuados tales como solubilizantes, emulsionantes, tampones, conservantes, edulcorantes, agentes saborizantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, colores, reguladores de la viscosidad, estabilizadores o osmorreguladores. Los ejemplos de portadores líquidos adecuados para administración oral y parenteral incluyen agua (que contiene parcialmente aditivos como anteriormente, por ejemplo derivados de celulosa, tales como disolución carboximetilcelulosa de sodio), alcoholes (que incluyen alcoholes monohidroxilados y alcoholes polihidroxilados, por ejemplo glicoles) y sus derivados, y aceites (por ejemplo, aceite de cacahuete y aceite de coco fraccionado). Para administración parenteral, el portador también puede ser un éster oleoso tal como oleato de etilo y miristato de isopropilo. Los portadores líquidos estériles son útiles en composiciones en forma líquida estéril para administración parenteral. El portador líquido para composiciones presurizadas puede ser un hidrocarburo halogenado u otro propelente farmacéuticamente aceptable.

Pueden utilizarse composiciones farmacéuticas líquidas, que son disoluciones o suspensiones estériles, por ejemplo, mediante inyección intramuscular, intratecal, epidural, intraperitoneal, intravenosa y particularmente subcutánea. El agente activo puede prepararse como una composición sólida estéril que puede disolverse o suspenderse en el momento de administración usando agua estéril, solución salina, u otro medio inyectable estéril apropiado.

Las composiciones pueden administrarse por vía oral en forma de una disolución o suspensión estéril que contiene otros solutos o agentes de suspensión (por ejemplo, suficiente solución salina o glucosa para hacer la disolución isotónica), sales biliares, goma arábiga, gelatina, monoleato de sorbitano, polisorbato 80 (ésteres de oleato de sorbitol y sus anhídridos copolimerizados con óxido de etileno) y similares. Las composiciones también pueden administrarse por vía oral en forma de composición o bien líquida o bien sólida. Las composiciones adecuadas para administración oral incluyen formas sólidas, tales como pastillas, cápsulas, gránulos, comprimidos y polvos, y formas líquidas, tales como disoluciones, jarabes, elixires y suspensiones. Las formas útiles para administración parenteral incluyen disoluciones, emulsiones y suspensiones estériles.

Pueden administrarse alternativamente acetil-leucina y composiciones que la comprenden mediante inhalación (por ejemplo, por vía intranasal). También pueden formularse composiciones para uso tópico. Por ejemplo, pueden aplicarse cremas o pomadas a la piel.

Puede incorporarse acetil-leucina dentro de un dispositivo de liberación lenta o sostenida. Tales dispositivos pueden, por ejemplo, insertarse sobre o debajo de la piel, y el medicamento puede liberarse a lo largo de semanas o incluso meses. Tales dispositivos pueden ser ventajosos cuando se requiere tratamiento a largo plazo con acetil-leucina usada según la presente divulgación y que requeriría normalmente administración frecuente (por ejemplo, al menos administración diaria).

En una realización, la composición farmacéutica está en forma de un comprimido. En comprimidos, el agente activo puede mezclarse con un vehículo, tal como un portador farmacéuticamente aceptable, que tiene las propiedades de compresión necesarias en proporciones adecuadas y se compacta en la forma y el tamaño deseados. Los comprimidos pueden contener hasta el 99% en peso de los agentes activos.

Por ejemplo, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede proporcionarse en una forma de dosificación sólida adecuada para administración oral, en particular en forma de un comprimido.

5 Pueden prepararse composiciones farmacéuticas en forma de dosificación oral sólida, tal como comprimidos, mediante cualquier método conocido en la técnica de farmacia. Se preparan habitualmente composiciones farmacéuticas mezclando la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, con portadores farmacéuticamente aceptables convencionales.

10 Puede formularse un comprimido tal como se conoce en la técnica. Tanganil®, por ejemplo, incluye almidón de trigo, almidón de maíz pregelatinizado, carbonato de calcio y estearato de magnesio como excipientes. Pueden emplearse por ejemplo, los mismos excipientes o similares con la presente divulgación.

15 La composición de cada comprimido de 700 mg de Tanganil® es tal como sigue: 500 mg de acetil-DL-leucina, 88 mg de almidón de trigo, 88 mg de almidón de maíz pregelatinizado, 13 mg de carbonato de calcio y 11 mg de estearato de magnesio. Pueden emplearse, por ejemplo, los mismos comprimidos con la presente divulgación.

20 La presente divulgación describe acetil-leucina, incluyendo composiciones y usos de la misma, para tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD en un sujeto que lo necesita. El sujeto que lo necesita puede tener un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable de un LSD. Por ejemplo, el marcador de un LSD puede ser un marcador celular. Puede haberse diagnosticado que el sujeto que lo necesita padece un LSD. Por ejemplo, puede haberse diagnosticado que el sujeto padece un LSD según un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable. Puede sospecharse que el sujeto que lo necesita padece o corre el riesgo de padecer un LSD. Por ejemplo, el sujeto puede tener una predisposición genética para un LSD (por ejemplo, el sujeto puede tener uno o más miembros de la familia con un LSD). El sujeto que lo necesita puede ser sintomático (es decir, presentar uno o más síntomas asociados con un LSD). El sujeto que lo necesita puede ser asintomático. Debe entenderse que los términos "sintomático" y "asintomático" se usan con referencia a síntomas de un LSD. Los sujetos que tienen un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable de un LSD, tales como sujetos a los que se les ha diagnosticado un LSD basándose en un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable, pero que no presentan síntomas adicionales de la enfermedad, se incluyen dentro del alcance de "asintomático" para los fines de la presente divulgación.

35 Tal como se usa en el presente documento, "tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD" y similares, se refiere a retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad, reducir la gravedad de un LSD o reducir la gravedad de o eliminar uno o más síntomas existentes asociados con un LSD, retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo en comparación con la progresión típica de la enfermedad, y/o revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo. "Tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD" también puede referirse a mejorar un marcador bioquímico de un LSD.

40 Tal como se usa en el presente documento, "progresión típica de la enfermedad", "progresión de la enfermedad que se esperaría normalmente" y similares se refieren a la progresión típica o esperada de un LSD, uno o más síntomas asociados con un LSD o un marcador bioquímico de un LSD si no se trata al sujeto. La progresión típica o esperada de la enfermedad puede basarse, por ejemplo, en una escala, índice, clasificación o puntuación conocidos, u otra prueba adecuada, para evaluar la progresión de un LSD, uno o más síntomas asociados con un LSD o un marcador bioquímico de un LSD, tal como los descritos en el presente documento. La escala, índice, clasificación, puntuación u otra prueba adecuada pueden corresponder a la progresión del LSD global o a la progresión de uno o más síntomas asociados con el LSD. Por ejemplo, la progresión típica o esperada de una enfermedad puede basarse en la aparición o gravedad típica o esperada del LSD o un síntoma o colección de síntomas asociados con el LSD. La progresión típica o esperada de una enfermedad puede determinarse en cada caso particular o puede basarse en lo que se observa normalmente para o experimenta un conjunto de sujetos afectados con el LSD, tal como una población o subpoblación de sujetos. Las subpoblaciones pueden incluir, por ejemplo, subpoblaciones del mismo sexo, de la misma edad o similar, de la misma sincronización o similar para la aparición de uno o más síntomas, etc.

55 En una realización, "tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD" se refiere a retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad. Tal como se usa en el presente documento, "retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD" y similares se refieren a aumentar el tiempo hasta, o prevenir, la aparición del LSD o uno o más síntomas del LSD. Por ejemplo, puede decirse que la aparición se retrasa cuando el tiempo hasta la manifestación de un LSD o uno o más síntomas de un LSD tarda al menos el 5% más de lo observado según la progresión típica de una enfermedad. Además se observa, por ejemplo, un aumento en el tiempo de al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o al menos el 100%. En una realización, el sujeto es asintomático. La administración de acetil-leucina puede iniciarse en el momento en el que el sujeto es asintomático para retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad. En otra realización, el sujeto es sintomático. La administración de acetil-leucina puede iniciarse en el momento en el que el sujeto tiene algunos síntomas con el fin de retrasar la aparición de uno o

más síntomas adicionales de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad. El sujeto que lo necesita puede continuar recibiendo tratamiento con acetil-leucina según las duraciones descritas en el presente documento. En una realización, el tratamiento previene la aparición de uno o más síntomas del LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad.

En una realización, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD” se refiere a reducir la gravedad de un LSD o reducir la gravedad de o eliminar uno o más síntomas existentes asociados con un LSD. La gravedad de un LSD o del/de los síntoma(s) existente(s) puede evaluarse usando una escala, índice, clasificación o puntuación conocidos, tal como los descritos como ejemplos en el presente documento, u otra prueba adecuada para evaluar la gravedad. Por ejemplo, la escala, índice, clasificación, puntuación u otra prueba adecuada pueden corresponder a la gravedad del LSD global o a la gravedad de uno o más síntomas asociados con el LSD. En una realización, el tratamiento mejora tal evaluación desde un valor o grado característico de un paciente sintomático hasta un valor o grado característico de un paciente asintomático.

En una realización, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD” se refiere a retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo en comparación con progresión típica de una enfermedad, o revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo. El tiempo a lo largo del cual el tratamiento retrasa o revierte la progresión puede coincidir con la duración del tratamiento tal como se describe en el presente documento. El tratamiento puede retrasar o revertir la progresión a lo largo de una duración de, por ejemplo, aproximadamente siete días o más, aproximadamente dos semanas o más, aproximadamente tres semanas o más, aproximadamente un mes o más, aproximadamente seis semanas o más, aproximadamente siete semanas o más o aproximadamente dos meses o más. Por ejemplo, el tratamiento retrasa o revierte la progresión a lo largo de una duración de aproximadamente tres meses o más, aproximadamente cuatro meses o más, aproximadamente cinco meses o más o aproximadamente seis meses o más. Además, por ejemplo, retrasa o revierte la progresión a lo largo de una duración de aproximadamente 1 año o más, aproximadamente 2 años o más, aproximadamente 3 años o más, aproximadamente 4 años o más, aproximadamente 5 años o más o aproximadamente 10 años o más. El tratamiento puede retrasar o revertir la progresión del LSD o uno o más síntomas asociados con el LSD a lo largo de toda la vida del paciente.

En una realización, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD” se refiere a retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo en comparación con la progresión típica de la enfermedad. Tal como se usa en el presente documento, “retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo” y similares se refieren a ralentizar y/o detener la progresión del LSD o uno o más síntomas del LSD (por ejemplo, ralentizar y/o detener el empeoramiento o gravedad creciente del LSD o uno o más síntomas del LSD) a lo largo del tiempo. La progresión de una enfermedad puede determinarse, por ejemplo, usando una escala, índice, clasificación o puntuación conocidos, tal como los descritos como ejemplos en el presente documento, u otras pruebas adecuadas para evaluar la progresión. Por ejemplo, la escala, índice, clasificación, puntuación, u otra prueba adecuada pueden corresponder a la progresión del LSD global o a la progresión de uno o más síntomas asociados con el LSD. En una realización, “retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD” significa que el valor de la gravedad de la enfermedad de un sujeto (por ejemplo, gravedad global o gravedad de uno o más síntomas) determinado mediante una escala, índice, clasificación, puntuación conocidos, etc., u otra prueba adecuada para evaluar la gravedad, no aumenta significativamente (por ejemplo, al menos permanece sustancialmente constante). En una realización, “retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD” significa impedir que el sujeto alcance, o aumentar el tiempo que tarda un sujeto en alcanzar (por ejemplo, disminuir la tasa de cambio de gravedad creciente), un valor de gravedad según una escala, índice, clasificación, puntuación conocidos, etc., u otra prueba adecuada, para evaluar la progresión en comparación con un valor que se corresponde con la progresión típica de la enfermedad. Por ejemplo, puede decirse que se retrasa la progresión cuando el tiempo hasta alcanzar un valor de gravedad tarda al menos el 5% más que el observado según la progresión típica de la enfermedad. Además se observa, por ejemplo, un aumento en el tiempo de al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 40%, al menos el 50%, al menos el 60%, al menos el 70%, al menos el 80%, al menos el 90% o al menos el 100%. El tiempo a lo largo del cual el tratamiento retrasa la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD puede coincidir con la duración del tratamiento tal como se describe en el presente documento. En una realización, el tratamiento retrasa la progresión durante al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses o al menos aproximadamente seis meses. En otra realización, el tratamiento retrasa la progresión durante al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años, al menos aproximadamente 3 años, al menos aproximadamente 4 años, al menos aproximadamente 5 años o al menos aproximadamente 10 años. El tratamiento puede retrasar la progresión a lo largo de toda la vida del paciente.

En una realización, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD” se refiere a revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo. Tal como se usa en el presente documento, “revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo” y similares se refieren a detener la progresión y reducir la gravedad del LSD o uno o más síntomas del LSD a lo largo del tiempo. Puede determinarse la progresión y gravedad de una enfermedad, por ejemplo, usando una escala, índice, clasificación o puntuación conocidos, tal como los descritos como ejemplos en el presente documento, u otra prueba adecuada para evaluar la



progresión y gravedad. Por ejemplo, la escala, índice, clasificación, puntuación u otra prueba adecuada pueden corresponder a la progresión y gravedad del LSD global o a la progresión y gravedad de uno o más síntomas asociados con el LSD. En una realización, “revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo” significa que el valor de la gravedad de la enfermedad de un sujeto (por ejemplo, la gravedad global o gravedad de uno o más síntomas) determinado por una escala, índice, clasificación, puntuación conocidos, etc., u otra prueba adecuada, para evaluar la gravedad, mejora a lo largo del tiempo (es decir, muestra una reducción de la gravedad a lo largo del tiempo). El tiempo a lo largo del cual el tratamiento revierte la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD puede coincidir con la duración del tratamiento tal como se describe en el presente documento. En una realización, el tratamiento revierte la progresión durante al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses o al menos aproximadamente seis meses. En otra realización, el tratamiento revierte la progresión durante al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años, al menos aproximadamente 3 años, al menos aproximadamente 4 años, al menos aproximadamente 5 años o al menos aproximadamente 10 años. El tratamiento puede revertir la progresión a lo largo de toda la vida del paciente.

En una realización, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD” se refiere a mejorar en el sujeto un marcador bioquímico de un LSD (por ejemplo, niveles aumentados del/de los metabolito(s) de almacenamiento o cambios bioquímicos secundarios que resultan del almacenamiento primario). Un marcador bioquímico es una señal de actividad de la enfermedad y puede proporcionar indicaciones continuas de la gravedad y progresión de una enfermedad a lo largo del tiempo. En una realización, el marcador bioquímico mejora en vista de un valor de control. En una realización, el marcador bioquímico se escoge de volumen lisosomal aumentado y niveles de glicosfingolípidos (GSL) aumentados. En una realización, el marcador bioquímico es volumen lisosomal aumentado y el tratamiento reduce el volumen lisosomal en el sujeto. En una realización, el marcador bioquímico es niveles de glicosfingolípidos (GSL) aumentados y el tratamiento reduce los niveles de GSL en el sujeto. En una realización, el tratamiento mejora un marcador bioquímico a lo largo del tiempo. Por ejemplo, en una realización, mejorar un marcador bioquímico a lo largo del tiempo significa que el tratamiento mejora un marcador bioquímico a lo largo del tiempo hacia un valor de control, previene la progresión de un marcador bioquímico a lo largo del tiempo y/o retrasa la progresión del marcador bioquímico a lo largo del tiempo en comparación con la progresión típica de la enfermedad. El tiempo durante el cual el tratamiento mejora un marcador bioquímico puede coincidir con la duración del tratamiento tal como se describe en el presente documento. En una realización, el tratamiento mejora un marcador bioquímico durante al menos aproximadamente tres meses, al menos aproximadamente cuatro meses, al menos aproximadamente cinco meses o al menos aproximadamente seis meses. En una realización adicional, el tratamiento mejora un marcador bioquímico durante al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años, al menos aproximadamente 3 años, al menos aproximadamente 4 años, al menos aproximadamente 5 años o al menos aproximadamente 10 años. El tratamiento puede mejorar el marcador bioquímico a lo largo de toda la vida del paciente.

Un “síntoma” de un LSD incluye cualquier manifestación clínica o de laboratorio asociada con un LSD y no se limita a lo que el sujeto puede sentir u observar. Los síntomas tal como se describe en el presente documento incluyen, pero no se limitan a, síntomas neurológicos y síntomas psiquiátricos. Los ejemplos de síntomas neurológicos incluyen ataxia, otros trastornos del movimiento tales como hipocinesia, rigidez muscular, temblor o distonía, trastornos motores oculares centrales tales como parálisis de la mirada/sacudida ocular supranuclear vertical y horizontal y déficits neuropsicológicos tales como demencia. Los ejemplos de síntomas psiquiátricos incluyen depresión, trastornos del comportamiento o psicosis. La aparición de síntomas puede variar desde el nacimiento hasta la edad adulta.

La progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo o a través del tratamiento puede monitorizarse, por ejemplo, usando una o más pruebas conocidas en dos o más puntos de tiempo y comparando los resultados. Puede evaluarse la progresión y/o gravedad de una enfermedad, por ejemplo, usando la Escala para la evaluación y clasificación de la ataxia (SARA), Índice funcional de ataxia espinocerebelosa (SCAFI), la Escala de clasificación de la ataxia cooperativa internacional (ICARS), la escala de clasificación de la ataxia breve (BARS), la Escala de clasificación de discapacidad modificada (mDRS), EuroQol 5Q-5D-5L (EQ-5D-5L), la escala analógica visual (VAS), la Escala Wechsler de inteligencia para adultos revisada (WAIS-R), Escala Wechsler de inteligencia para niños-IV (WISC-IV), la Evaluación cognitiva de Montreal (MoCA) u otras pruebas adecuadas. Para determinados LSD, tales como NPC, se han desarrollado y validado puntuaciones particulares a lo largo de las últimas décadas, por ejemplo la puntuación de gravedad clínica (CSS) y la puntuación de incremento de gravedad anual (ASIS) (véase Yanjanin *et al.*, “Linear Clinical Progression, Independent of Age of Onset, in Niemann-Pick Disease, Type C”, *Am J Med Genet Part B* 153B:132-140) y la Escala de discapacidad NP-C de 6 dominios modificada (puntuación de mDRS). Por ejemplo, puede cuantificarse la gravedad de un paciente con NPC asignando una CSS, que evalúa diversos parámetros de la enfermedad (deambulacion, convulsiones, movimiento ocular, etc.) y proporciona a cada parámetro una puntuación de 5. Una mayor puntuación es igual a una mayor gravedad. La ASIS cuantifica la tasa anual de cambio en la CSS, calculada dividiendo la CSS entre la edad del paciente. En este aspecto, determinadas puntuaciones en estas pruebas son características de pacientes con LSD sintomáticos y evidencian progresión y/o gravedad de la enfermedad.

Por tanto, “tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD”, por ejemplo, puede equipararse a lograr una evaluación

mejorada, tal como las descritas en el presente documento, de una puntuación de SARA, SCAFI, ICARS, BARS, mDRS, EQ-5D-5L, VAS, WAIS-R, WISC-IV, CSS y/o MoCA, o resultar de otra prueba adecuada para caracterizar a un sujeto con LSD. Por ejemplo, en una realización, “reducir la gravedad de un LSD o reducir la gravedad de o eliminar uno o más síntomas existentes de un LSD” significa mejorar una puntuación de SARA, SCAFI, ICARS, BARS, mDRS, EQ-5D-5L, VAS, WAIS-R, WISC-IV, CSS y/o MoCA, o un resultado de otra prueba adecuada para evaluar la gravedad, tal como mejorar la puntuación o el resultado desde un valor de gravedad característico de un sujeto sintomático hasta un valor característico de un sujeto asintomático. En otra realización, “retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD” significa que la puntuación de SARA, SCAFI, ICARS, BARS, mDRS, EQ-5D-5L, VAS, WAIS-R, WISC-IV, CSS y/o MoCA de un sujeto, o un resultado de otra prueba adecuada para evaluar la progresión, no aumenta significativamente (por ejemplo, al menos permanece sustancialmente constante). En una realización adicional, “retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD” significa impedir que la puntuación de SARA, SCAFI, ICARS, BARS, mDRS, EQ-5D-5L, VAS, WAIS-R, WISC-IV, CSS y/o MoCA de un sujeto, o un resultado de otra prueba adecuada para evaluar la progresión, alcance o aumente el tiempo que se tarda en alcanzar un valor en comparación con el de la progresión típica de la enfermedad. En otra realización, “revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo” significa que la puntuación de SARA, SCAFI, ICARS, BARS, mDRS, EQ-5D-5L, VAS, WAIS-R, WISC-IV, CSS y/o MoCA de un sujeto, o resultado de otra prueba adecuada para evaluar la progresión, mejora a lo largo del tiempo (es decir, muestra una reducción de la gravedad a lo largo del tiempo).

Por ejemplo, para evaluar el estado neurológico global, mDRS, puede aplicarse una escala de cuatro dominios (deambulación, manipulación, lenguaje y deglución). Puede evaluarse la función cerebelosa usando SARA, una escala de puntuación clínica de ocho elementos (marcha, postura, posición sentada, habla, función motora fina y taxia; intervalo 0-40, en donde 0 es el mejor estado neurológico y 40 el peor), y SCAFI, que comprende el tiempo de caminata de 8 m (8MW; realizado haciendo caminar a los pacientes dos veces tan rápido como sea posible desde una línea hasta otra excluyendo el giro), prueba de clavijas de 9 agujeros (9HPT) y el número de repeticiones “PATA” a lo largo de 10 s. El deterioro subjetivo y la calidad de vida pueden evaluarse usando el cuestionario EQ-5D-5L y VAS. Para evaluar la función motora ocular, puede usarse video-oculografía tridimensional (EyeSeeCam) para medir la velocidad pico de sacudidas oculares, ganancia de seguimiento visual, velocidad de fase lenta máxima de nistagmo provocado por la mirada (función de mantener la mirada), velocidad de fase lenta máxima de nistagmo optocinético y ganancia de reflejo vestibulo-ocular horizontal. Para evaluar el estado cognitivo, puede usarse WAIS-R o WISC-IV, y MoCA, que evalúan diferentes dominios cognitivos, incluyendo atención y concentración, funciones ejecutivas, memoria, lenguaje, destrezas visuoespaciales, pensamiento conceptual, cálculos y orientación con un máximo de 30 puntos y una puntuación de corte de 26. El experto sabrá cómo realizar estas y otras pruebas de este tipo.

La acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede administrarse, por ejemplo, a una dosis que oscila entre aproximadamente 500 mg y aproximadamente 15 g al día o que oscila entre aproximadamente 500 mg y aproximadamente 10 g al día, tal como que oscila entre aproximadamente 1,5 g y aproximadamente 10 g al día, opcionalmente por vía oral sólida u oral líquida. La acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede administrarse, por ejemplo, en una dosis según la de Tanganil®, que se receta a adultos en una dosis de 1,5 g a 2 g al día, 3-4 comprimidos en dos dosis, mañana y noche.

Si se administra un enantiómero, las dosis pueden reducirse en consecuencia. Por ejemplo si sólo se administra acetil-L-leucina o si sólo se administra acetil-D-leucina, la dosis puede oscilar entre aproximadamente 250 mg y aproximadamente 15 g al día, oscilar entre aproximadamente 250 mg y aproximadamente 10 g al día, u oscilar entre aproximadamente 250 mg y aproximadamente 5 g al día, tal como entre aproximadamente 0,75 g y aproximadamente 5 g al día.

En una realización, la dosis administrada oscila entre aproximadamente 1 g y aproximadamente 15 g al día, entre aproximadamente 1 g y aproximadamente 10 g al día, o entre aproximadamente 1,5 g y aproximadamente 7 g al día. Puede ser de desde aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 ó 14 hasta aproximadamente 15 g al día. Puede ser de desde aproximadamente 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 ó 9 g hasta aproximadamente 10 g al día. Puede ser más de aproximadamente 1,5 g al día, pero menos de aproximadamente 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6 ó 5 g al día. En una realización, la dosis oscila entre aproximadamente 4 g y aproximadamente 6 g al día. En otra realización, la dosis oscila entre aproximadamente 4 g y aproximadamente 5 g al día. En una realización, la dosis es de aproximadamente 4,5 g al día. En una realización, la dosis es de aproximadamente 5 g al día. En una realización, estas dosis se administran en forma de dosificación oral sólida, en particular comprimidos. En otra realización, estas dosis son para acetil-leucina cuando está en su forma racémica. Las dosis para acetil-leucina cuando está presente un exceso enantiomérico pueden ser menores que las mencionadas en el presente documento, por ejemplo, de alrededor de un 50% menores. Por tanto, los intervalos de dosis mencionados anteriormente, cuando se dividen a la mitad, también están abarcados explícitamente por la presente divulgación.

La dosis diaria total puede distribuirse entre múltiples administraciones, es decir, la administración puede producirse dos o más veces al día para lograr la dosis diaria total. Como ejemplo, el número requerido de comprimidos para proporcionar la dosis diaria total de acetil-leucina puede dividirse entre dos administraciones (por ejemplo, por la mañana y noche) o tres administraciones (por ejemplo, por la mañana, tarde y noche). Cada dosis puede

administrarse adecuadamente con o sin alimentos. Por ejemplo, la acetil-leucina puede dosificarse aproximadamente 1 o aproximadamente 2 horas antes de las comidas, tal como al menos aproximadamente 20 minutos, al menos aproximadamente 30 minutos, al menos aproximadamente 40 minutos o al menos aproximadamente 1 hora antes de las comidas, o puede dosificarse aproximadamente 1, aproximadamente 2 o  
 5 aproximadamente 3 horas después de las comidas, tal como esperando al menos aproximadamente 20 minutos, al menos aproximadamente 30 minutos, al menos aproximadamente 1 hora, al menos aproximadamente 1,5 horas, al menos aproximadamente 2 horas o al menos aproximadamente 2,5 horas después de las comidas. Por ejemplo, puede administrarse una dosis diaria total de 4,5 g de acetil-DL-leucina como tres comprimidos de Tanganil® (o equivalente) antes de, con o después del desayuno, tres comprimidos adicionales antes de, con o después de la  
 10 comida, y tres comprimidos adicionales antes de, con o después de la cena.

La administración de acetil-leucina según la presente divulgación puede iniciarse antes o después de que se encuentre que un sujeto tiene un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable de un LSD, tal como, en el caso de lo primero, cuando se sospecha que el sujeto padece o corre el riesgo de padecer un LSD. La  
 15 administración puede iniciarse en el momento o alrededor del momento en el que se encuentra que un sujeto tiene un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable de un LSD. De manera similar, la administración puede iniciarse antes de, en o alrededor del momento, o después de que se diagnostique a un sujeto con un LSD, tal como antes de, en o alrededor del momento, o después de que se encuentre que un sujeto tiene un marcador genético, bioquímico u otro similar identificable de un LSD. La administración de acetil-leucina puede iniciarse cuando el sujeto  
 20 es sintomático o asintomático. En particular, una de las ventajas del tratamiento con acetil-leucina, según la presente divulgación, es que la administración de acetil-leucina puede iniciarse tan pronto como el momento después de que se encuentre que un sujeto tiene un marcador genético y/o bioquímico de un LSD pero antes de que el sujeto muestre síntomas del LSD (distintos del marcador genético y/o bioquímico, es decir, el sujeto es asintomático) o antes de que el sujeto muestre uno o más síntomas considerados los rasgos distintivos de la enfermedad. El  
 25 tratamiento puede retrasar la aparición del LSD o uno o más síntomas asociados con el LSD, tal como se describe en el presente documento. El tratamiento también puede continuarse durante una duración tal como se describe en el presente documento.

Tal como se comenta en el presente documento, una ventaja del tratamiento con acetil-leucina, según la presente divulgación, es que puede administrarse acetil-leucina durante un largo periodo de tiempo para, por ejemplo, retrasar o incluso revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD en un sujeto en comparación con la progresión típica de la enfermedad. La duración del tratamiento puede ser, por ejemplo, de aproximadamente siete días o más, de aproximadamente dos semanas o más, de aproximadamente tres semanas o más, de  
 30 aproximadamente un mes o más, de aproximadamente seis semanas o más, de aproximadamente siete semanas o más o de aproximadamente dos meses o más. En una realización, es aproximadamente de tres meses o más, de aproximadamente cuatro meses o más, de aproximadamente cinco meses o más o de aproximadamente seis meses o más. La duración del tratamiento puede ser de aproximadamente 1 año o más, de aproximadamente 2 años o más, de aproximadamente 4 años o más, de aproximadamente 5 años o más o de aproximadamente 10 años o más. La duración del tratamiento puede ser toda la vida del paciente.

La invención prevé y abarca todas y cada una de las combinaciones de forma de dosificación, cantidad de dosis, programa de dosificación y duración del tratamiento. En una realización, la dosis es de desde aproximadamente 4 g hasta aproximadamente 10 g al día, tomada entre una, dos o tres administraciones al día, durante una duración del  
 35 tratamiento de aproximadamente dos meses o más. En otra realización, la dosis es de más de 4 g pero no más de 5 g al día, tomada entre una, dos o tres administraciones al día, durante una duración del tratamiento de aproximadamente seis meses o más. La forma de dosificación puede ser una forma de dosificación oral sólida, en particular comprimidos.

La composición farmacéutica puede usarse como monoterapia (por ejemplo, uso del agente activo solo) para tratar un LSD en un sujeto. Alternativamente, la composición farmacéutica puede usarse como complemento a, o en combinación con, otras terapias conocidas, por ejemplo, para tratar un LSD en un sujeto.

Todos los LSD, que pueden clasificarse de diversas formas, están dentro del alcance de la presente divulgación. En una realización, el LSD se escoge de cualquiera de enfermedad de almacenamiento de glicógeno, mucopolisacaridosis, mucolipidosis, oligosacaridosis, lipidosis, esfingolipidosis y enfermedades de transporte lisosomal.

Las esfingolipidosis pueden escogerse de cualquiera de enfermedad de Niemann-Pick tipo A/B, enfermedad de Gaucher tipos I, II y III, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Fabry, enfermedad de Schindler, gangliosidosis GM1, enfermedad de Morquio B, gangliosidosis GM2, leucodistrofia metacromática, enfermedad de Farber, deficiencia de sulfatasa múltiple, deficiencia de lipasa ácida lisosomal y galactosialidosis. En una realización, las esfingolipidosis se escogen de enfermedad de Niemann-Pick tipo A, gangliosidosis GM1, enfermedad de Tay-Sachs, la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs y enfermedad de Sandhoff.

Las mucolipidosis pueden escogerse de cualquiera de mucolipidosis I, mucolipidosis II, mucolipidosis III y mucolipidosis IV. En una realización, la mucolipidosis es mucolipidosis II o mucolipidosis III.

- Las mucopolisacaridosis pueden escogerse de cualquiera de MPS IH, MPS I H-S, MPS IS, MPS IIA, MPS IIB, MPS IIIA-D, MPS IVA, MPS VI, MPS VII y MPS IX. En una realización, la mucopolisacaridosis es MPS III o MPS VII. En una realización, la mucopolisacaridosis es MPS IIIB.
- 5 Las oligosacaridosis pueden escogerse de cualquiera de beta-manosidosis, alfa-fucosidosis y aspartilglucosaminuria. En una realización, la oligosacaridosis es aspartilglucosaminuria.
- 10 Las lipidosis pueden escogerse de cualquiera de lipofuscinosis ceroides neuronales (tipo I a X incluidas) y enfermedad de Wolman.
- La enfermedad de almacenamiento de glicógeno puede escogerse de enfermedad de Pompe de aparición infantil, enfermedad de Pompe de aparición tardía y enfermedad de Danon.
- 15 Las enfermedades de transporte lisosomal pueden escogerse de cistinosis, picnodisostosis, enfermedad de almacenamiento de ácido siálico y enfermedad de almacenamiento de ácido siálico libre infantil.
- El LSD puede ser un defecto de hidrolasa lisosomal primario, un defecto de procesamiento postraduccional de enzimas lisosomales, un defecto de tráfico para enzimas lisosomales, un defecto en la protección de enzimas lisosomales, un defecto en proteínas lisosomales no enzimáticas solubles, un defecto de proteína transmembrana (no enzimática) o un defecto no clasificado.
- 20 En una realización, el LSD se escoge de un defecto de hidrolasa lisosomal primario. Los defectos de hidrolasa lisosomal primarios incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Tay-Sachs (defecto de  $\beta$ -hexosaminidasa A), enfermedad de Sandhoff (defecto de  $\beta$ -hexosaminidasa A+B), enfermedad de Fabry (defecto de  $\alpha$ -galactosidasa A), enfermedad de Krabbe (defecto de  $\beta$ -galactosilceramidasa), Niemann-Pick tipo A y B (defecto de esfingomielinasa), leucodistrofia metacromática (defecto de arilsulfatasa A), MPS IH (síndrome de Hurler; defecto de  $\alpha$ -iduronidasa), MPS IS (síndrome de Scheie; defecto de  $\alpha$ -iduronidasa), MPS IH-S (síndrome de Hurler-Scheie; defecto de  $\alpha$ -iduronidasa), MPS II (síndrome de Hunter; defecto de iduronato sulfatasa), MPS IIIA (síndrome de Sanfilippo A; defecto de heparán sulfamidasa), MPS IIIB (síndrome de Sanfilippo B; defecto de acetil  $\alpha$ -glucosaminidasa), MPS IIIC (síndrome de Sanfilippo C; defecto de acetil CoA:  $\alpha$ -glucosaminidasa N-acetiltransferasa), MPS IIID (síndrome de Sanfilippo D; defecto de N-acetil glucosamina-6-sulfatasa), MPS IV A (enfermedad de Morquio A; defecto de acetil galactosamina-6-sulfatasa), MPS IVB (enfermedad de Morquio B; defecto de  $\beta$ -galactosidasa), MPS V (MPS IS redesignado), MPS VI (síndrome de Maroteaux Lamy; defecto de acetil galactosamina-4-sulfatasa (arilsulfatasa B)),
- 25 MPS VII (síndrome de Sly; defecto de  $\beta$ -glucuronidasa), MPS IX (defecto de hialuronidasa), enfermedad de Wolman/almacenamiento de éster de colesterilo (WD; defecto de lipasa ácida), enfermedad de Pompe (tipo II; defecto de  $\alpha$  1,4-glucosidasa), aspartilglucosaminuria (defecto de glicosilasparaginasa), fucosidosis (defecto de  $\alpha$ -fucosidasa),  $\alpha$ -manosidosis (defecto de  $\alpha$ -manosidasa),  $\beta$ -manosidosis (defecto de  $\beta$ -manosidasa), enfermedad de Schindler (defecto de N-acetilgalactosaminidasa), sialidosis/ML I (defecto de  $\alpha$ -neuraminidasa), lipofuscinosis ceroide neuronal infantil (CLNi; defecto de palmitoil-proteína tioesterasa), lipofuscinosis ceroide neuronal infantil tardía (CLN2; defecto de carboxipeptidasa), gangliosidosis infantil temprana GM1, gangliosidosis infantil tardía GM1, gangliosidosis infantil adulta GM1, enfermedad de Gaucher tipo 1 (no neuronopática), enfermedad de Gaucher tipo 2/3 (neuronopática), lipofuscinosis ceroide neuronal tipo 4 (CLN4; enfermedad de Kufs; NCL adulta; deficiencia de palmitoil-proteína tioesterasa-1 (tipo A); deficiencia de catepsina F (tipo B)), lipofuscinosis ceroide neuronal tipo 10 (CLN10; deficiencia de catepsina D congénita), picnodisostosis (defecto de catepsina K), enfermedad de Pompe de aparición infantil, enfermedad de Pompe de aparición tardía, enfermedad de Farber (lipogranulomatosis de Farber; deficiencia de ceramidasa; dismucopolisacaridosis fibrocítica; lipogranulomatosis) y galactosialidosis (defecto de proteína catepsina A protectora, defecto de PPCA). En una realización, el defecto de hidrolasa lisosomal primaria se escoge de enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, Niemann-Pick tipo A, Niemann-Pick tipo B,
- 30 lipofuscinosis ceroides neuronales, enfermedad de Gaucher, enfermedad de Fabry, enfermedad de Krabbe, gangliosidosis GM1, gangliosidosis GM2, leucodistrofia metacromática y enfermedad de Farber. En una realización, el defecto de hidrolasa lisosomal primario se escoge de enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, Niemann-Pick tipo A, Niemann-Pick tipo B y gangliosidosis GM1.
- 35 En una realización, el LSD se escoge de un defecto de procesamiento postraduccional de enzimas lisosomales. Los defectos de procesamiento postraduccional de enzimas lisosomales incluyen, pero no se limitan a, mucosulfatidosis (MSD; defecto de sulfatasa múltiple), MLII (enfermedad celular I; defecto de N-acetilglucosamina fosforiltransferasa) y MLIII (polidistrofia pseudo-Hurler; defecto de N-acetilglucosamina fosforiltransferasa).
- 40 En una realización, el LSD se escoge de un defecto de tráfico para enzimas lisosomales. Los defectos de tráfico para enzimas lisosomales incluyen, pero no se limitan a, mucopolipidosis tipo II (enfermedad celular I; defecto de N-acetilglucosamina fosforiltransferasa), mucopolipidosis tipo IDA (polidistrofia pseudo-Hurler; defecto de N-acetilglucosamina fosforiltransferasa) y mucopolipidosis tipo IIIC.
- 45 En una realización, el LSD es un defecto en la protección de enzimas lisosomales. Los defectos en la protección de
- 50
- 55
- 60
- 65

enzimas lisosomales incluyen, pero no se limitan a, galactosialidosis (defecto de proteína catepsina A protectora (PPCA)).

5 En una realización, el LSD es un defecto en proteínas lisosomales no enzimáticas solubles. Los defectos en proteínas lisosomales no enzimáticas solubles incluyen, pero no se limitan a, deficiencia de proteína activadora de GM2 (variante AB), deficiencia de proteína activadora de esfingolípidos (SAP).

10 En una realización, el LSD es un defecto de proteína transmembrana (no enzimática). Los defectos de proteína transmembrana (no enzimática) incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Danon (defecto de proteína 2 de membrana asociada a lisosomas (LAMP2)), NPC (defecto de NPCi), cistinosis (defecto de cistinosina), enfermedad de almacenamiento de ácido siálico libre infantil (ISSD; defecto de sialina), enfermedad de Salla (almacenamiento de ácido siálico libre; defecto de sialina), lipofuscinosis ceroide neuronal juvenil (CLN3, enfermedad de Batten), lipofuscinosis ceroide neuronal adulta (enfermedad de Kufs; NCL adulta; deficiencia de palmotolil-proteína tioesterasa-i (tipo A); deficiencia de catepsina F (tipo B)), lipofuscinosis ceroides neuronales (NCL) (CLN6, CLN7 y CLN8) y mucopolidosis tipo IV (defecto de mucopolipina).

15 En una realización, el LSD es un defecto no clasificado. Los defectos no clasificados incluyen, pero no se limitan a, lipofuscinosis ceroides neuronales (NCL) (CLN5 y CLN9).

20 El LSD que va a tratarse por las composiciones y usos de la invención puede ser cualquiera de las lipofuscinosis ceroides neuronales, glicosfingolipidosis primarias (es decir Gaucher, Fabry, gangliosidosis GM1, GM2, Krabbe y leucodistrofia metacromática (MLD)), enfermedad de Farber y deficiencia de sulfatasa múltiple. En una realización, el LSD tiene una implicación significativa del sistema nervioso central (SNC). Por ejemplo, el LSD puede escogerse de NPC, enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, gangliosidosis GM1 o enfermedad de Fabry.

25 En una realización, el LSD es enfermedad de Niemann-Pick tipo A. En otra realización, el LSD es enfermedad de Niemann-Pick tipo B. Las enfermedades de Niemann-Pick son un grupo heterogéneo de LSD recesivos autosómicos. Las características celulares comunes incluyen almacenamiento de esfingomielina (SM) anómalo en células fagocíticas mononucleares y tejidos parenquimales, así como (hepato)esplenomegalia. Entre los tres subgrupos principales (A-C), NPC (anteriormente clasificada como NPC y NPD y ahora considerada como una enfermedad individual) se clasifica como un LSD neurovisceral mortal provocado por acumulación inducida por transporte de colesterol intracelular anómalo de colesterol no esterificado en compartimentos de endosomas/lisosomales tardíos. Fuera del SNC, las características celulares de NPC incluyen acumulación anómala de colesterol no esterificado y otros lípidos (por ejemplo GSL) dentro de compartimentos de endosomas/lisosomales tardíos. A la inversa, no hay elevación neta en colesterol en el SNC (aunque tiene una distribución alterada) sino que hay niveles muy elevados de GSL. La neurodegeneración progresiva se caracteriza particularmente por la degeneración secuencial de neuronas de Purkinje GABAérgicas en el cerebelo, que es paralela a la aparición y progresión de ataxia cerebelosa y otros aspectos de disfunciones neurológicas observadas durante el transcurso de NPC. Estudios genéticos han demostrado que la enfermedad de NPC está provocada por mutaciones en los genes o bien Npc1 o bien Npc2. El vínculo mecanístico preciso entre estos dos genes sigue siendo desconocido y los papeles funcionales de estas proteínas siguen siendo enigmáticos. NPCi codifica para una proteína que atraviesa múltiples veces la membrana de la membrana limitante del endosoma/lisosoma tardío, mientras que NPC2 es una proteína de unión a colesterol soluble del lisosoma. Cuando se inactiva NPCi, la esfingosina es el primer lípido que va a almacenarse, lo que sugiere que NPCi desempeña un papel en el transporte de esfingosina desde el lisosoma, donde se genera normalmente como parte del catabolismo de esfingolípidos. A su vez, una esfingosina elevada provoca un defecto en la entrada de calcio en almacenes ácidos que da como resultado una liberación de calcio enormemente reducida a partir de este compartimento. Esto evita entonces la fusión de endosomas-lisosomas tardíos, que es un proceso dependiente de calcio, y provoca la acumulación secundaria de lípidos (colesterol, esfingomielina y glicosfingolípidos) que son cargas en tránsito a través de la ruta endocítica tardía. Otras consecuencias secundarias de la inhibición de la función NPCi incluyen endocitosis defectuosa y no poder eliminar vacuolas autofágicas. Se ha demostrado que micobacterias patógenas seleccionan como diana la ruta celular NPC1/NPC2 para promover su supervivencia en endosomas tardíos.

55 La enfermedad de Tay-Sachs es un trastorno hereditario mortal del metabolismo lipídico caracterizado especialmente en tejido del SNC debido a deficiencia de la isozima A de  $\beta$ -hexosaminidasa. Mutaciones en el gen HEXA, que codifica para la subunidad  $\alpha$  de  $\beta$ -hexosaminidasa, provocan la deficiencia de isozima A. Tay-Sachs es un prototipo de un grupo de trastornos, la gangliosidosis GM2, caracterizados por degradación de gangliósido GM2 defectuosa. El gangliósido GM2 (gangliósido 2 monosialilado) se acumula en las neuronas empezando ya en la vida fetal.

60 La enfermedad de Sandhoff resulta de una deficiencia de las isozimas tanto A como B (básicas) de  $\beta$ -hexosaminidasa. Mutaciones en el gen HEXB, que codifica para la subunidad  $\beta$  de  $\beta$ -hexosaminidasa, provocan la deficiencia de isozima B.

65 La gangliosidosis GM1 está provocada por una deficiencia de  $\beta$ -galactosidasa, que da como resultado

almacenamiento lisosomal de gangliósido GM1 (gangliósido 1 monosialilado).

La enfermedad de Fabry está provocada por una deficiencia de  $\alpha$ -galactosidasa, que da como resultado almacenamiento lisosomal de un trihexósido de ceramida.

5 En una realización, el LSD se escoge de enfermedad de Tay-Sachs, la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Niemann Pick tipo A, mucopolipidosis II, mucopolipidosis III, MPS III, MPS VII, gangliosidosis GM1 y aspartilglucosaminuria. En una realización, el LSD es enfermedad de Sandhoff. En una realización, el LSD es enfermedad de Tay-Sachs. En una realización, el LSD es la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs. En una realización, el LSD es mucopolipidosis tipo II. En una realización, el LSD es mucopolipidosis tipo III. En una realización, el LSD es gangliosidosis GM1. En una realización, el LSD es MPS III. En una realización, el LSD es MPS VII. En una realización el LSD es enfermedad de Niemann Pick tipo A. En una realización, el LSD es aspartilglucosaminuria.

15 En una realización, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, trata la pérdida de peso, el deterioro de la marcha y/o el deterioro de la función motora asociados con Niemann-Pick tipo A o mucopolipidosis tipo II. Por ejemplo, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede retrasar la aparición de, reducir la gravedad de o eliminar, o retrasar o revertir la progresión de pérdida de peso, deterioro de la marcha y/o deterioro de la función motora asociados con Niemann-Pick tipo A o mucopolipidosis tipo II. En una realización, la pérdida de peso, el deterioro de la marcha y/o el deterioro de la función motora están asociados con Niemann-Pick tipo A o mucopolipidosis tipo II.

20 En una realización, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, trata el deterioro de la marcha, el deterioro de la función motora y/o la movilidad reducida asociados con enfermedad de Sandhoff. Por ejemplo, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede retrasar la aparición de, reducir la gravedad de o eliminar, o retrasar o revertir la progresión de deterioro de la marcha, deterioro de la función motora y/o movilidad reducida asociada con enfermedad de Sandhoff.

25 En una realización, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, trata la coordinación reducida, los temblores, la movilidad reducida, el deterioro cognitivo y/o el deterioro de la marcha asociados con enfermedad de Tay-Sachs. Por ejemplo, la acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede retrasar la aparición de, reducir la gravedad de o eliminar, o retrasar o revertir la progresión de coordinación reducida, temblores, movilidad reducida, deterioro cognitivo y/o deterioro de la marcha asociados con enfermedad de Tay-Sachs.

30 También se proporciona un uso para tratar un LSD o uno o más síntomas de un LSD en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el uso administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al sujeto. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un agente es cualquier cantidad que, cuando se administra a un sujeto, es la cantidad de agente que se necesita para producir el efecto deseado que, para la presente divulgación, puede ser terapéutico y/o profiláctico. La dosis puede determinarse según diversos parámetros, tales como la forma específica de acetil-leucina usada; la edad, el peso y el estado del paciente que va a tratarse; el tipo de la enfermedad; la vía de administración; y el régimen requerido. Un médico será capaz de determinar la vía de administración y dosificación requeridas para cualquier paciente particular. Por ejemplo, una dosis diaria puede ser de desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 225 mg por kg, desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 150 mg por kg, o desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 100 mg por kg de peso corporal.

35 También se da a conocer un kit para tratar un LSD en un sujeto que lo necesita (por ejemplo, un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD), que comprende medios para diagnosticar o pronosticar un LSD, y acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

40 Los medios para diagnosticar o pronosticar un LSD pueden incluir un agente de unión específica, sonda, cebador, par o combinación de cebadores, una enzima o anticuerpo, incluyendo un fragmento de anticuerpo, que puede detectar o ayudar en la detección de un LSD, tal como se define en el presente documento. El kit también puede comprender LysoTracker®, que es un marcador fluorescentes y está disponible comercialmente de tanto Invitrogen como también Lonza. El LysoTracker® puede ser azul, azul-blanco, amarillo, verde o rojo.

45 El kit también comprende acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, tal como se define en el presente documento. El kit también puede comprender tampones o disoluciones acuosas. El kit puede comprender además instrucciones para usar la acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en un uso de la invención.

50 En una realización adicional, se da a conocer acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en la proporción de neuroprotección en un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD.

“Neuroprotección” y sus análogos, tal como se usa en el presente documento, se refieren a prevención, una ralentización en y/o una progresión revertida de la neurodegeneración incluyendo, pero sin limitarse a, pérdida progresiva de la estructura neuronal, pérdida progresiva de la función neuronal y/o muerte neuronal progresiva. Proporcionar neuroprotección puede dar como resultado retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad, reducir la gravedad de un LSD o reducir la gravedad de o eliminar uno o más síntomas existentes asociados con un LSD, retrasar la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo en comparación con la progresión típica de la enfermedad y/o revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas de un LSD a lo largo del tiempo. El tiempo durante el cual se proporciona neuroprotección puede coincidir con la duración del tratamiento tal como se describe en el presente documento. El tratamiento puede proporcionar neuroprotección a lo largo de una duración de, por ejemplo, aproximadamente siete días o más, aproximadamente dos semanas o más, aproximadamente tres semanas o más, aproximadamente un mes o más, aproximadamente seis semanas o más, aproximadamente siete semanas o más o aproximadamente dos meses o más. Además, por ejemplo, el tratamiento proporciona neuroprotección a lo largo de una duración de aproximadamente tres meses o más, aproximadamente cuatro meses o más, aproximadamente cinco meses o más o aproximadamente seis meses o más. En otra realización, proporciona neuroprotección a lo largo de una duración de aproximadamente 1 año o más, aproximadamente 2 años o más, aproximadamente 3 años o más, aproximadamente 4 años o más, aproximadamente 5 años o más o aproximadamente 10 años o más. El tratamiento puede proporcionar neuroprotección a lo largo de toda la vida del paciente.

Tal como resulta evidente por los ejemplos, los inventores creen que la acetil-leucina actúa como agente neuroprotector y, de ese modo, inhibe la neurodegeneración que de otra forma se esperaría que se manifestara.

En una realización, existe un uso de proporcionar neuroprotección en un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD, comprendiendo el uso administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, al sujeto.

También se da a conocer un kit para proporcionar neuroprotección en un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD, comprendiendo el kit medios para diagnosticar o pronosticar un LSD, y acetil-leucina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

La presente divulgación incluye además el uso de acetil-leucina, o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, como agente neuroprotector en un sujeto que padece, se sospecha que padece o corre el riesgo de padecer un LSD.

Todas las características descritas en el presente documento (incluyendo cualquier reivindicación, resumen y dibujo adjunto), y/o todas las etapas de cualquier método así dado a conocer, pueden combinarse con cualquiera de los aspectos anteriores en cualquier combinación, excepto combinaciones en las que al menos algunas de tales características y/o etapas sean mutuamente excluyentes.

## Ejemplos

La invención se explicará ahora en detalle adicional en los siguientes ejemplos, que demuestran la utilidad de acetil-leucina en el tratamiento de un LSD en un sujeto y en la proporción de neuroprotección en dicho sujeto.

### Ejemplo 1

#### Estudio en ratón *in vivo* - métodos

##### Modelo de ratón

Este estudio hizo uso de un modelo de ratón auténtico de NPC, el ratón *Npc1<sup>-/-</sup>* (BALB/cNctr-*Npc1<sup>m1N</sup>/J*), que es nulo para la proteína *NPC1* y presenta todos los rasgos distintivos de la enfermedad clínica (Loftus, 1997).

Esta cepa mutante surgió espontáneamente y tiene una esperanza de vida en el intervalo de 10-14 semanas y por tanto tiene un transcurso de enfermedad más agudo que la gran mayoría de pacientes. El ratón mutante se ha aprovechado satisfactoriamente, no sólo para determinar la ontogenia de la enfermedad y mecanismos patógenos subyacentes, sino también para la evaluación de terapias experimentales. Se han emprendido análisis usando estos ratones a los niveles de animal completo, celular y molecular (Baudry, 2003; Smith, 2009; Cologna, 2014; Cologna, 2012). Es el modelo animal más intensivamente estudiado de NPC.

Antes de aproximadamente 4-5 semanas de edad, los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* no tienen indicación conductual discernible de enfermedad que les distinga de los compañeros de camada de tipo natural. Las primeras indicaciones de déficits conductuales, tales como temblor y marcha atáxica, aparecen a las semanas 5-6; a las semanas 7-8 se vuelven más evidentes los defectos en la coordinación motora, y a las 9-10 semanas la ataxia está avanzada y va acompañada por una pérdida de peso aumentada y mal estado del pelaje ya que se vuelve difícil alimentarse y beber (criterio de

valoración humano aplicado) (Smith, 2009).

Como control se usaron compañeros de camada de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*).

5 Protocolo de tratamiento

Se trataron un grupo de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* y un grupo de ratones *Npc1<sup>+/+</sup>* con acetil-DL-leucina 0,1 g/kg, proporcionada en mezcla con el pienso del ratón, desde el destete (tres semanas de edad). Grupos diferenciados de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* y *Npc1<sup>+/+</sup>* se dejaron sin tratar, como controles.

10 Estado del pelaje

Se comparó el estado del pelaje de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>*, con y sin tratamiento con acetil-DL-leucina, mediante simple observación de los ratones a las nueve semanas de edad.

15 Datos de peso

Se pesaron los animales dos veces a la semana. Se calculó el promedio de los pesos (media) en todos los ratones en cada grupo y se compararon.

20 Análisis de la marcha

Se realizó un análisis de la marcha en ratones a las ocho semanas de edad usando un sistema CatWalk® 15.0 según las instrucciones del fabricante (Noldus, Nottingham, RU). Se grabaron cinco carreras por animal.

25 Los parámetros de CatWalk® medidos fueron:

1. media en pie: duración promedio (s) de las patas en contacto con la placa de vidrio;
2. ciclo de pasos: duración (s) entre dos contactos consecutivos de la misma pata;
3. ciclo de trabajo: porcentaje de tiempo que las patas están en contacto con la placa en comparación con el tiempo hasta completar un ciclo de pasos;
4. secuencia de pasos (AB): porcentaje de tiempo pasado caminando en el patrón alternante LF-RH-RF-LH (LF: delantera izquierda; RH: trasera derecha; RF: delantera derecha; LH trasera izquierda);
5. cadencia: pasos por segundos en un ensayo;
6. apoyo diagonal: porcentaje de tiempo con contacto simultáneo de patas diagonales con la placa de vidrio (RF y LH o RH y LF).

Análisis de la función motora

45 Se realizó el análisis de la función motora en ratones a las ocho y nueve semanas de edad usando un monitor de actividad de campo abierto según las instrucciones del fabricante (Linton Instruments, Amlogger Software). Cada ratón se colocó en una jaula de plástico con lecho y se analizó durante cinco minutos. Se contaron manualmente las partes traseras.

50 Los parámetros de función motora medidos fueron:

1. erguimiento central: los ratones se yerguen sobre las patas traseras sin apoyo;
2. erguimiento: los ratones se yerguen sobre las patas traseras con y sin el apoyo de las paredes de la jaula;
3. actividad: movimiento regular del animal incluyendo caminatas;
4. recuento frontal a posterior (FR): movimiento del animal desde la parte frontal hasta la posterior de la jaula;
5. tiempo activo: duración (s/min) de la actividad independientemente del movimiento;
6. tiempo móvil: duración (s/min) de la movilidad;
7. tiempo de erguimiento: duración de cualquier erguimiento.

65 Resultados



## Estado del pelaje

5 La figura 1B muestra un compañero de camada de edad coincidente *Npc1<sup>-/-</sup>* sin tratar. Se observó que los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tenían un mal estado del pelaje a las nueve semanas de edad, ya que alimentarse y beber se habían vuelto difíciles (véase la figura 1B).

10 En contraste distinto, la figura 1A muestra un ratón *Npc1<sup>-/-</sup>* tratado con acetil-DL-leucina desde el destete. Los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados con acetil-DL-leucina tenían un pelaje liso y brillante, reminiscente de los compañeros de camada silvestres (*Npc1<sup>+/+</sup>*) (véase la figura 1A).

## Datos de peso

15 Tal como puede observarse en la figura 2A, los ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*) aumentaron de peso progresivamente durante la duración del estudio, es decir desde tres semanas hasta 10 semanas de edad. Además, la figura 2A muestra el peso medio por grupo de ratones a cada punto de tiempo (*Npc1<sup>-/-</sup>* sin tratar, n = 1; *Npc1<sup>-/-</sup>* acetil-DL-leucina 0,1 g/kg, n = 3; *Npc1<sup>+/+</sup>* sin tratar, n = 3; *Npc1<sup>+/+</sup>* acetil-DL-leucina 0,1 g/kg, n = 2).

20 El tratamiento con acetil-DL-leucina no tenía efecto significativo sobre este aumento de peso.

Los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* inicialmente aumentaron de peso, en gran medida de la misma manera que los controles *Npc1<sup>+/+</sup>*. Sin embargo, los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* comenzaron luego a perder peso desde las seis semanas de edad. Al final del estudio (10 semanas de edad), los ratones pesaban casi tan poco como a tan sólo cuatro semanas de edad.

25 El tratamiento con acetil-DL-leucina retrasó estos síntomas de pérdida de peso en dos semanas en comparación con el grupo sin tratar.

30 En la figura 2B se muestra una comparación de los cambios de peso en ratones *Npc1<sup>-/-</sup>*, con y sin tratamiento con acetil-DL-leucina. En particular, la figura 2B muestra el cambio de peso (%) por grupo de ratones a cada punto de tiempo, para los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* sólo. El efecto beneficioso del tratamiento con acetil-DL-leucina en el retraso de la pérdida de peso es claramente evidente a partir de esta figura.

## Análisis de la marcha

35 Los resultados del análisis de la marcha se muestran en la figura 3. En las figuras 3A - 3C se muestran datos de apoyo diagonal, cadencia y secuencia de pasos, respectivamente. Las figuras 3D y 3E muestran datos de las patas delanteras (FP) (media en pie y ciclo de pasos en la figura 3D; ciclo de trabajo en la figura 3E). Las figuras 3F y 3G muestran datos de las patas traseras (HP) (media en pie y ciclo de pasos en la figura 3F; ciclo de trabajo en la figura 3G). Los datos se presentan como media ± EEM. n=3 para *Npc1<sup>+/+</sup>* sin tratar, n=2 para *Npc1<sup>+/+</sup>* tratados, n=1 para *Npc1<sup>-/-</sup>* sin tratar (por tanto no se realizó análisis estadístico), n=3 para *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados.

La primera barra en cada gráfico muestra las propiedades de marcha de ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*).

45 La segunda barra en cada gráfico muestra las propiedades de marcha de ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*) tratados con acetil-DL-leucina. No hubo diferencia significativa en las propiedades de marcha entre estos ratones y sus compañeros de camada sin tratar.

50 La tercera barra en cada gráfico muestra las propiedades de marcha de un ratón *Npc1<sup>-/-</sup>*. Globalmente, este ratón mostró una mala marcha en comparación con ratones *Npc1<sup>+/+</sup>*. El ratón pasó extremadamente poco tiempo, si es que pasó alguno, en apoyo diagonal (figura 3A) o secuencia de pasos (figura 3C), y su función de patas traseras en media en pie (figura 3F) y ciclo de trabajo (figura 3G) estaban también drásticamente dificultadas.

55 La cuarta barra en cada gráfico muestra las propiedades de marcha de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados con acetil-DL-leucina. Estos ratones demostraron una marcha significativamente mejorada en comparación con sus compañeros de camada sin tratar. De hecho, mostraron propiedades de marcha similares a ratones *Npc1<sup>+/+</sup>*.

## Análisis de la función motora

60 El análisis a las ocho semanas de edad no reveló diferencias en las propiedades de función motora entre ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* y ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*) (datos no mostrados).

A las nueve semanas de edad, sin embargo, se habían hecho evidentes defectos en la coordinación motora.

65 Los resultados del análisis de la función motora a las nueve semanas se muestran en la figura 4. En las figuras 4A - 4D se muestran el erguimiento central, actividad, erguimiento y recuento frontal a posterior (FR), respectivamente. En las figuras 4E - 4H se muestran el tiempo activo, tiempo móvil, tiempo de erguimiento y recuento de erguimiento

manual total, respectivamente. Los datos se presentan como media  $\pm$  EEM. n=3 para *Npc1<sup>+/+</sup>* sin tratar, n=2 para *Npc1<sup>+/+</sup>* tratados, n=1 para *Npc1<sup>-/-</sup>* sin tratar (por tanto no se realizó análisis estadístico), n=3 para *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados.

La primera barra en cada gráfico muestra las propiedades de función motora de ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*).

5 La segunda barra en cada gráfico muestra las propiedades de función motora de ratones de tipo natural (*Npc1<sup>+/+</sup>*) tratados con acetil-DL-leucina. No hubo diferencias significativas en las propiedades de función motora entre estos ratones y sus compañeros de camada sin tratar.

10 La tercera barra en cada gráfico muestra las propiedades de función motora de un ratón *Npc1<sup>-/-</sup>*. Globalmente, este ratón mostró una mala función motora en comparación con ratones *Npc1<sup>+/+</sup>*. El ratón pasó extremadamente poco tiempo, si es que pasó alguno, en erguimiento (panel H), particularmente sobre sus patas traseras sin apoyo (panel A).

15 La cuarta barra en cada gráfico muestra las propiedades de función motora de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados con acetil-DL-leucina. Estos ratones demostraron una función motora significativamente mejorada en comparación con sus compañeros de camada sin tratar. De hecho, mostraron propiedades de función motora similares a ratones *Npc1<sup>+/+</sup>*.

Esperanza de vida

20 Se observó también que el tratamiento del ratón *Npc1<sup>-/-</sup>* con acetil-DL-leucina (0,1 g/kg desde las 3 semanas de edad) está asociado con un aumento estadísticamente significativo en la esperanza de vida (figura 5). Estos datos indican además el efecto de acetil-leucina en el retraso de la aparición de la enfermedad.

## 25 Conclusión

Cuando los ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* tenían una indicación discernible de enfermedad que los distinguía de sus compañeros de camada de tipo natural desde las 5-6 semanas de edad, los compañeros de camada *Npc1<sup>-/-</sup>* tratados con acetil-DL-leucina desde el destete no presentaban tales síntomas hasta dos o más semanas más tarde. El tratamiento de ratones *Npc1<sup>-/-</sup>* con acetil-DL-leucina retrasó la aparición y progresión de síntomas de NPC y mostró evidencias de neuroprotección.

## Ejemplo 2

### 35 Métodos

Se trató una línea celular de fibroblastos de un paciente con NPC durante 3 días con N-acetil-DL-leucina (1 mM) y se cuantificó el volumen lisosomal relativo por medio de LysoTracker, un colorante fluorescente que se acumula en orgánulos ácidos. El aumento de la fluorescencia de LysoTracker es indicativo de un aumento en el tamaño y/o número lisosomal, y es un rasgo distintivo de células NPC.

45 Además, se trataron fibroblastos derivados de pacientes con Niemann-Pick A (NPA), mucopolipidosis tipo II (MLII), mucopolisacaridosis tipo IIIB (MPS IIIB), aspartilglucosaminuria, mucopolipidosis tipo IIIA (MLIIIA) y mucopolisacaridosis tipo VII (MPS VII) con acetil-DL-Leucina (1 mM) durante 6 días y se cuantificó el volumen lisosomal por medio de LysoTracker.

### Resultados

50 El tratamiento de fibroblastos derivados de un paciente con NPC de gravedad clínica leve con N-acetil-DL-leucina 1 mM estaba asociado con una disminución significativa en la fluorescencia de LysoTracker, indicativa de un volumen lisosomal reducido a lo largo del tiempo (figura 6A). Estos hallazgos se replicaron en fibroblastos obtenidos de pacientes con NPC adicionales pacientes de gravedad clínica variable que se trataron con N-acetil-DL-leucina 1 mM durante 72 horas (figura 6B).

55 Se observó que fibroblastos derivados de pacientes con NPA, MLII, MPS IIIB, aspartilglucosaminuria, MLIIIA y MPS VII tenían niveles de fluorescencia de LysoTracker elevados en relación con controles de tipo natural de edad coincidente (figuras 6C-6H). Esto es indicativo de un lisosoma expandido que se produce como resultado del almacenamiento de lípidos en comparación con fibroblastos de individuos sanos. El tratamiento con acetil-leucina estaba asociado con una reducción estadísticamente significativa de la fluorescencia de LysoTracker hacia el nivel de control en los fibroblastos con NPA, MLII y MPS IIIB en relación con los fibroblastos con NPA, MLII y MPS IIIB sin tratar, respectivamente (figuras 6C-6E), y estaba asociado con una tendencia de reducción de la fluorescencia de LysoTracker hacia el nivel de control en los fibroblastos con aspartilglucosaminuria, MLIIIA y MPS VII en relación con los fibroblastos con aspartilglucosaminuria, MLIIIA y MPS VII sin tratar, respectivamente (figuras 6F-6H). La reducción de la fluorescencia de LysoTracker era indicativa de una disminución en el volumen lisosomal (figuras 6C-6H). Los datos presentados en las figuras 6A - 6D muestran los resultados del tratamiento para cada línea celular, respectivamente, expresándose el volumen lisosomal como el cambio en veces en relación con fibroblastos de tipo

natural sin tratar. Los asteriscos (\*/\*\*) indican valores de p de (<0,05/0,001) frente a fibroblastos con enfermedad sin tratar.

Conclusión

5 El tratamiento con tratamiento con N-acetil-DL-leucina estaba asociado con la rectificación del almacenamiento lisosomal alterado mediante la reducción del volumen lisosomal y por tanto corrigió directamente un fenotipo de estos trastornos de almacenamiento lisosomal. Estas enfermedades representan clases diferentes de LSD, y por tanto estos resultados apoyan adicionalmente la utilidad del efecto de acetil-leucina frente a una amplia gama de trastornos de almacenamiento lisosomal.  
10

Ejemplo 3

15 La enfermedad de Sandhoff es un trastorno que puede resultar de la herencia autosómica excesiva de mutaciones en el gen HEXB, que codifica para la subunidad beta de beta-hexosaminidasa. Como resultado de esto, el gangliósido GM2 no puede degradarse y se acumula dentro de los lisosomas en células de la periferia y el sistema nervioso central (SNC).

20 Este estudio hizo uso de un modelo de ratón de enfermedad de Sandhoff, el ratón *Hexb*<sup>-/-</sup>, tal como se describe en Jeyakumar *et al.* (Jeyakumar, M. *et al.* (1999) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96: 6388-6393).

Como controles se usaron ratones de tipo natural (*Hexb*<sup>+/+</sup>).

Esperanza de vida

25 El tratamiento con acetil-DL-Leucina estaba asociado con un aumento estadísticamente significativo en la esperanza de vida del ratón con Sandhoff (figura 7A). En la figura 7A, se trataron ratones tratados con acetil-leucina con acetil-leucina 0,1 g/kg desde las 3 semanas de edad. Los asteriscos (\*) indican un valor de p de <0,05 frente a ratones con Sandhoff sin tratar. Los datos son el promedio de n=6 ratones por grupo. Sin tratamiento, la mediana del tiempo de supervivencia de ratones con Sandhoff era de 112 días. El tratamiento con acetil-leucina (0,1 g/kg de peso corporal desde las 3 semanas de edad) aumentó la mediana de esperanza de vida hasta 120 días.  
30

Función motora

35 El tratamiento de ratones con Sandhoff con acetil-leucina dio lugar a mejoras en la función motora tal como se indicó mediante estudios de cruce de barras y ciclo de pasos.

Prueba de cruce de barras

40 La prueba de cruce de barras es un método para evaluar la función motora en ratones en la que el ratón se coloca colgando del centro de una barra horizontal por sus extremidades delanteras. Un ratón de tipo natural con función motora normal podrá agarrarse con sus extremidades traseras y de ese modo desplazarse a una de las plataformas en cualquier extremo de la barra, y al hacer eso completará la prueba.

45 Un ratón con Sandhoff sin tratar puede completar la prueba hasta alrededor de las 11 semanas de edad. Tras este punto, la función motora y la movilidad/agarre de las extremidades traseras se han deteriorado hasta el punto de que el ratón no puede completar la prueba, y se caerá de la barra sobre la superficie acolchada inferior.

50 El tratamiento del modelo de ratón con Sandhoff con acetil-DL-leucina (0,1 g/kg de peso corporal desde las 3 semanas de edad) estaba asociado con función motora y movilidad/agarre de las extremidades traseras mejoradas tal como se evaluó mediante la prueba de cruce de barras (figura 7B). En la figura 7B, se proporcionó tratamiento con acetil-leucina de 0,1 g/kg de peso corporal desde las 3 semanas de edad. Los ratones con Sandhoff tratados acetil-leucina conservaban la capacidad para completar la prueba hasta las 13 semanas de edad (incluido). Los datos mostrados son la media de 6 ratones por grupo. Los ratones con Sandhoff tratados conservaban la capacidad de completar la prueba hasta las 13 semanas de edad (incluido).  
55

Ciclo de pasos

60 El ciclo de pasos es la duración de tiempo que tarda una extremidad durante la locomoción desde el momento que se despegas del suelo hasta que se despegas del suelo la siguiente ocasión.

Se evaluó el tiempo de ciclo de pasos a las 12 semanas de edad en ratones modelo con Sandhoff no tratados y tratados con acetil-leucina. El tratamiento con acetil-leucina constituía 0,1 g/kg de peso corporal de acetil-leucina desde las 3 semanas de edad.

65 El tratamiento del modelo de ratón con Sandhoff con acetil-leucina estaba asociado con tiempos de ciclo de pasos

- 5 delanteros significativamente más rápidos ( $p < 0,05$  frente a ratón SH sin tratar), tiempos de ciclo de pasos traseros significativamente más rápidos ( $p < 0,01$  frente a ratón SH sin tratar) y tiempos de ciclo de pasos promedio significativamente más rápidos ( $p < 0,001$  frente a ratón SH sin tratar) (figura 7C). En la figura 7C, se proporcionó tratamiento con acetil-leucina de 0,1 g/kg de peso corporal desde las 3 semanas de edad. El ciclo de pasos delanteros se refiere a las extremidades delanteras del ratón, el ciclo de pasos traseros a las extremidades traseras del ratón y el ciclo de pasos promedio tiene en cuenta todas las extremidades del ratón. Los asteriscos (\*/\*\*/\*\*\*\*) indican valores de  $p$  de  $< 0,05/0,01/0,001$  frente a ratón con Sandhoff sin tratar. Los datos mostrados son la media  $\pm$  desv. est.
- 10 Por tanto, el tratamiento con acetil-leucina estaba asociado con un ciclo de pasos más rápido en el modelo de ratón con Sandhoff, lo que puede indicar una mejora en la función motora.

#### Conclusiones

- 15 Estos estudios demuestran que el tratamiento con acetil-leucina de un modelo de ratón de enfermedad de Sandhoff puede dar lugar a mejoras en la función motora tal como se evalúa mediante dos experimentos independientes, así como una esperanza de vida significativamente aumentada.

#### Ejemplo 4

- 20 La gangliosidosis GM2 son un grupo de trastornos de almacenamiento lisosomal que surgen de defectos en la actividad  $\beta$ -hexosaminidasa. El grupo abarca enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff y la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs.
- 25 Se trataron fibroblastos derivados de pacientes con GM2 (enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff y la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs) y controles sanos con acetil-DL-leucina (1 mM durante 6 días) antes de la extracción y cuantificación de los niveles de glicosfingolípidos (GSL) por medio de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).
- 30 En ausencia de tratamiento, los fibroblastos derivados de las 3 variedades de gangliosidosis GM2 demostraron niveles elevados de GSL en comparación con controles de tipo natural sin tratar. En los 3 casos, el tratamiento con acetil-DL-leucina (1 mM durante 6 días) estaba asociado con una reducción en el almacenamiento de GSL. En el caso de enfermedad de Tay-Sachs, esta disminución era estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). En el caso de enfermedad de Sandhoff y la variante AB de Tay-Sachs, había una tendencia hacia niveles disminuidos de GSL asociados con el tratamiento. Los datos presentados en las figuras 8A - 8C muestran los resultados del tratamiento para cada línea celular, respectivamente, con niveles de GSL ajustados para el contenido en proteína y expresados como cambio en veces en relación con los niveles en fibroblastos de tipo natural sin tratar.
- 35

#### Ejemplo 5

- 40 Paciente 1
- El paciente en este estudio de caso era un varón de 28 años de edad con diagnóstico genético de enfermedad de Tay-Sachs y que presentaba disartría, temblor, ataxia de postura y marcha, paraparesis y atrofias musculares.
- 45 En particular, el paciente no podía tenerse en pie o caminar, podía dar pasos individuales con apoyo fuerte, tenía inestabilidad postural distintiva, trastorno de movimiento ocular, disfagia y disartría, y trastorno de la función cognitiva leve. Los primeros síntomas se observaron a la edad de 16 años.

- 50 Antes de que comenzara el tratamiento, el examen del paciente indicó una puntuación de la escala para la evaluación y clasificación de la ataxia (SARA) de 15,5/40. Además, los resultados del análisis del índice funcional de ataxia espinocerebelosa (SCAFI) del paciente fueron:

Prueba de caminata de 8 metros media (8MW): 21,6 s

- 55 Prueba de tablero de clavijas de 9 agujeros MW dominante (9HPTD) (derecha): 48,3 s

Prueba de tablero de clavijas de 9 agujeros MW no dominante (9HPTND): 44,9 s

Prueba de palabras de PATA MW: 20

- 60 Evaluación cognitiva de Montreal (MoCA): 18/30

También se grabó un video del paciente para su comparación posterior.

- 65 El día siguiente de este examen, el paciente comenzó con la terapia con acetil-leucina, a una dosis de 3 g al día durante la primera semana, seguido por una dosis de 5 g al día durante la segunda semana en adelante.

Tras un mes y cuatro meses, respectivamente, se reexaminó al paciente mientras continuaba con el tratamiento. Tras un mes, el paciente tenía una mejora de las habilidades motoras finas y un temblor reducido de las manos, por ejemplo mientras comía o bebía. La acción de caminar no cambió notablemente. Tras cuatro meses, el paciente estaba en un estado estable con una función cognitiva ligeramente mejorada pero tenía un deterioro de la postura, marcha y función motora fina. Las puntuaciones de SARA del paciente y los resultados de los análisis de SCAFI del paciente se muestran a continuación en comparación con el nivel inicial.

Tabla 1. Parámetros de evaluación del paciente.

	Nivel inicial	Tras un mes con acetil-DL-leucina	Tras 4 meses con acetil-DL-leucina
SARA	15,5/40	15,5/40	17/40
8MWT	21,6 s	7 s	25,49 s
9HPTD	48,3 s	45,9 s	48,67 s
9HPTND	44,9 s	40,1 s	47,09 s
PATA	20	22	21
MoCA	18/30	21/30	22/30

Globalmente, el paciente presentaba una mejora en los síntomas tras el tratamiento con acetil-leucina.

Paciente 2

El paciente en este estudio de caso era una mujer de 32 años de edad con diagnóstico genético de enfermedad de Tay-Sachs y que presentaba ataxia de postura y marcha, alteración motora fina, paraparesis de extremidades inferiores y atrofas musculares. En particular, no era posible caminar sin apoyo, y la paciente padecía disfagia y trastorno del habla, trastorno del movimiento ocular y trastorno de función cognitiva leve. Los primeros síntomas se observaron a la edad de 7 años.

Antes de que comenzara el tratamiento, el examen de la paciente indicó una puntuación de la escala para la evaluación y clasificación de la ataxia (SARA) de 10,5/40. Además, los resultados del análisis del índice funcional de ataxia espino-cerebelosa (SCAFI) del paciente fueron:

Prueba de caminata de 8 metros media (8MW): 12,5 s

Prueba de tablero de clavijas de 9 agujeros MW dominante (9HPTD) (derecha): 21,5 s

Prueba de tablero de clavijas de 9 agujeros MW no dominante (9HPTND): 35,5 s

Prueba de palabras de PATA MW: 18

Evaluación cognitiva de Montreal (MoCA): 21/30

También se grabó un video de la paciente para su comparación posterior.

El día del examen, la paciente comenzó con la terapia con acetil-leucina a una dosis de 3 g al día durante la primera semana, seguido por una dosis de 5 g al día durante la segunda semana en adelante.

Tras un mes, se reexaminó a la paciente mientras continuaba con el tratamiento y mostró enunciación aumentada, estabilidad postural mejorada y función cognitiva potenciada. Eran posibles la postura y la marcha sin apoyo. La puntuación de SARA de la paciente y los resultados del análisis de SCAFI de la paciente se muestran a continuación en comparación con el nivel inicial.

Tabla 2. Parámetros de evaluación de la paciente.

	Nivel inicial	Tras un mes con acetil-DL-leucina
SARA	10,5/40	5/40
8MWT	12,5 s	9,55 s
9HPTD	21,5 s	34,97 s
9HPTND	35,5 s	39,34 s

PATA	18	17
MoCA	21/30	25/30

Paciente 3

5 El paciente en este estudio de caso era un varón de 8 años de edad con diagnóstico genético de enfermedad de Tay-Sachs y que tenía espasmos epilépticos (tónico-clónicos, aproximadamente 10 segundos, autolimitantes) casi cada día antes de quedarse dormido, trastorno del movimiento ocular, anartria, distintos problemas de función cognitiva y concentración (no era posible un examen neurológico), no podía tenerse en pie o caminar por sí mismo y estaba muy limitado en las actividades diarias (no era posible que comiera, se lavara o se vistiera por sí mismo). Los primeros síntomas se observaron a la edad de 9 meses.

10 Antes de que comenzara el tratamiento, el examen del paciente indicó una puntuación de escala para la evaluación y clasificación de la ataxia (SARA) de 36/40, una puntuación de mRDS de 18/24, una escala visual de EQ-5D-5L de 50 y una 8MWT de 18,1 (sólo con apoyo fuerte).

15 El paciente comenzó con la terapia con acetil-leucina a una dosis de 1,5 g al día durante la primera semana, seguido por una dosis de 3 g al día durante la segunda semana en adelante.

20 Tras un mes, se reexaminó al paciente mientras continuaba con el tratamiento y mostró un aumento de las habilidades motoras finas (podía agarrar cosas pequeñas), aumento de la motivación (intentó más a menudo caminar por sí mismo), estabilidad postural, marcha y postura mejoradas, y podía decir palabras sencillas. Las puntuaciones de SARA, mRDS, escala visual de EQ-5D-5L y 8MWT el paciente se muestran a continuación en comparación con el nivel inicial.

25 Tabla 3. Parámetros de evaluación del paciente.

	Nivel inicial	Tras un mes con acetil-DL-leucina
SARA	36/40	33/40
mRDS	18/24	16/24
Escala visual de EQ-5D-5L	50	60
8MWT	18,1 (sólo con apoyo fuerte)	11,75 (con apoyo de un brazo)

Ejemplo 6

30 El paciente en este estudio de caso era un varón de 13 años de edad con diagnóstico genético de gangliosidosis GM1 y que no podía tenerse en pie o caminar por sí mismo, estaba muy limitado en las actividades diarias (no era posible que comiera, se lavara, se vistiera por sí mismo), y tenía trastorno de movimiento ocular, anartria y distintos problemas de función cognitiva y concentración (no era posible un examen neurológico). Los primeros síntomas se observaron a la edad de 2 años.

35 Antes de que comenzara el tratamiento, el examen del paciente indicó una puntuación de escala para la evaluación y clasificación de la ataxia (SARA) de 35/40, una puntuación de mRDS de 15 y una escala visual de EQ-5D-5L de 50.

40 El paciente comenzó con la terapia con acetil-leucina a una dosis de 1,5 g al día durante la primera semana, seguido por una dosis de 3 g al día durante la segunda semana en adelante.

45 Tras un mes, se reexaminó al paciente mientras continuaba con el tratamiento y mostró un estado general estable, marcha aumentada (más fluida) y postura estable en posición natural. Las puntuaciones de SARA, mRDS y escala visual de EQ-5D-5L del paciente se muestran a continuación en comparación con el nivel inicial.

Tabla 4. Parámetros de evaluación del paciente.

	Nivel inicial	Tras un mes con acetil-DL-leucina
SARA	35/40	35/40
mRDS	15	16
Escala visual de EQ-5D-5L	50	60

Ejemplo 7

La gravedad de un paciente con NPC puede cuantificarse asignando una puntuación de gravedad clínica (CSS), que evalúa diversos parámetros de la enfermedad y da a cada parámetro una puntuación de entre 5 (mayor puntuación = mayor gravedad). Véase Yanjanin *et al.*, "Linear Clinical Progression, Independent of Age of Onset, in Niemann-Pick Disease, Type C," *Am J Med Genet Part B* 153B:132-140. En un paciente sin tratar, puede predecirse normalmente cómo cambiará la CSS a lo largo del tiempo en un individuo, ya que la progresión de una enfermedad parece ser lineal. Por ejemplo, si el paciente A pasa de una CSS de 8 a una CSS de 12 entre el mes 0 y el mes 12, puede predecirse que hacia el mes 36 el paciente tendrá una CSS de 20. La puntuación de incremento de gravedad anual (ASIS) cuantifica la tasa anual de cambio en la CSS, calculada dividiendo la CSS de un paciente entre la edad del paciente. Por ejemplo, si el paciente B sin tratar tenía una CSS de 8 a los dos años de edad, la ASIS del paciente sería de 4. Cada año, el paciente experimentaría un progreso de 4 puntos de CSS, de manera que a los 4 años de edad la CSS del paciente sería de 16. Si la intervención terapéutica ralentizaba o detenía la progresión de la enfermedad, se esperaría que el paciente tuviera una puntuación de ASIS más pequeña tras tal terapia que en el nivel inicial.

A diez pacientes con NPC se les administró acetil-leucina a 4,5 g/día durante largas duraciones. Se determinó una CSS al nivel inicial, y a diversos puntos de tiempo, para movimiento ocular, deambulación, habla, deglución, habilidades motoras finas, capacidad intelectual, memoria y convulsiones. Se calculó una CSS global al nivel inicial y a cada punto de tiempo de este tipo añadiendo los valores de CSS individuales para cada parámetro (movimiento ocular, deambulación, etc.). El número de días tras el inicio de la terapia a los que se evaluó la CSS era diferente para cada paciente, tal como se muestra en la tabla 5.

Tabla 5. Días tras el inicio de la administración de acetil-leucina a los que se evaluó la CSS.

I.D. del paciente	Nivel inicial (días)	Punto de tiempo 2 (días)	Punto de tiempo 3 (días)	Punto de tiempo 4 (días)
1	0	126	231	
2	0	119	200	297
3	0	91	240	
4	0	107	196	
5	0	78	238	414
6	0	184	238	414
7	0	81	165	
8	0	90	217	
9	0	400	644	
10	0	83		

Las tablas 6-14 a continuación muestran cada CSS para el global, movimiento ocular, deambulación, habla, deglución, habilidades motoras finas, capacidad intelectual, memoria y convulsiones, respectivamente.

Tabla 6. CSS global.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	11	11	10	
2	33	33	33	33
3	13	12	11	
4	13	13	10	
5	12	12	12	12
6	21	23	21	21
7	19	19	19	
8	13	12	11	
9	22	22	21	

10	14	11		
----	----	----	--	--

Tabla 7. CSS de movimiento ocular.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	3	3	3	
2	3	3	3	3
3	3	3	3	
4	2	2	2	
5	3	3	3	3
6	3	3	3	3
7	3	3	3	
8	3	3	2	
9	3	3	3	
10	3	3		

5 Tabla 8. CSS de deambulaci3n.

Puntuaci3n de gravedad cl3nica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	2	2	1	
2	5	5	5	5
3	1	1	1	
4	2	2	1	
5	1	1	1	1
6	2	4	2	2
7	2	2	2	
8	1	1	1	
9	2	2	2	
10	2	2		

Tabla 9. CSS de habla.

Puntuaci3n de gravedad cl3nica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	1	1	1	
2	2	2	2	2
3	1	1	1	
4	2	2	1	
5	1	1	1	1
6	2	2	2	2
7	1	1	1	



8	1	1	1	
9	2	2	2	
10	1	1		

Tabla 10. CSS de la deglución.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	0	0	0	
2	4	4	4	4
3	2	2	2	
4	2	2	2	
5	2	2	2	2
6	3	3	3	3
7	3	3	3	
8	2	2	2	
9	3	3	3	
10	2	2		

5 Tabla 11. CSS de habilidades motoras finas.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	1	1	1	
2	5	5	5	5
3	2	1	1	
4	1	1	1	
5	1	1	1	1
6	4	4	4	4
7	2	2	2	
8	2	1	1	
9	4	4	4	
10	1	1		

Tabla 12. CSS de capacidad intelectual.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	3	3	3	
2	5	5	5	5
3	3	3	3	
4	3	3	3	
5	3	3	3	3

6	4	4	4	4
7	4	4	4	
8	3	3	3	
9	4	4	4	
10	3	2		

Tabla 13. CSS de memoria.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	1	1	1	
2	4	4	4	4
3	1	1	0	
4	1	1	0	
5	1	1	1	1
6	3	3	3	3
7	4	4	4	
8	1	1	1	
9	4	4	3	
10	2	0		

5 Tabla 14. CSS de convulsiones.

Puntuación de gravedad clínica (CSS)				
I.D. del paciente	Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
1	0	0	0	
2	5	5	5	5
3	0	0	0	
4	0	0	0	
5	0	0	0	0
6	0	0	0	0
7	0	0	0	
8	0	0	0	
9	0	0	0	
10	0	0		

La ASIS en el nivel inicial y cada punto de tiempo se calculó usando la CSS de cada paciente y la edad en el momento de la evaluación. La ASIS global para cada paciente en cada punto de tiempo se muestra a continuación en la tabla 15.

10

Tabla 15. ASIS global.

Puntuaciones de incremento de gravedad anual (ASIS)			
Nivel inicial	Punto de tiempo 2	Punto de tiempo 3	Punto de tiempo 4
0,381371618	0,376864272	0,339262493	

1,94125463	1,904748736	1,880675612	1,852636028
0,65	0,592617631	0,53250497	
0,481909063	0,476731928	0,363469002	
0,433188377	0,429874461	0,423232908	0,416160273
0,561964246	0,607297766	0,552333117	0,545420607
0,536675431	0,533334614	0,529913714	
0,486750384	0,445200609	0,402903129	
0,738624874	0,71243018	0,665646967	
0,595597228	0,406038403		

5 Tal como se muestra en la tabla 6 y la figura 9A, ninguno de los diez pacientes mostró un aumento global en la CSS durante el transcurso del experimento. El paciente 6 mostró un aumento de CSS entre el nivel inicial y el punto de tiempo 2, pero regresó al nivel inicial hacia el punto de tiempo 3 y permaneció allí en el punto de tiempo 4. Cuatro de los diez pacientes (pacientes 2, 5, 6 y 7) tuvieron una CSS constante durante el transcurso del experimento, indicando que la enfermedad no progresó en estos individuos. Seis de los diez pacientes (pacientes 1, 3, 4, 8, 9 y 10) mostraron una reducción en CSS durante el transcurso del experimento, indicando que la enfermedad no progresó y que realmente se volvió menos grave. Se observaron mejoras en diferentes subpuntuaciones: paciente 1: deambulaci3n; paciente 3: habilidades motoras finas; paciente 4: deambulaci3n y habla; paciente 8: movimiento ocular y habilidades motoras finas; paciente 9: memoria; paciente 10: capacidad intelectual. Los datos presentados en las figuras 10A-10J muestran subpuntuaciones de CSS para cada paciente, respectivamente, en forma de un gr1fico de barras.

15 Tal como se muestra en la tabla 15 y la figura 9B, los diez pacientes mostraron una reducci3n en ASIS durante el tratamiento en relaci3n con ASIS en el nivel inicial. En los pacientes 2, 5, 6 y 7, la CSS sigui3 siendo igual al tiempo que aumentaba la edad, dando como resultado una peque1a reducci3n de ASIS. En los pacientes 1, 3, 4, 8, 9 y 10, la reducci3n de ASIS fue mayor debido a la disminuci3n de CSS al tiempo que aumentaba la edad.

## REIVINDICACIONES

1. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el tratamiento de un trastorno de almacenamiento lisosomal (LSD) o uno o más síntomas asociados con un LSD en un sujeto que lo necesita, en la que el LSD no es Niemann-Pick tipo C.
2. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en la que el LSD se escoge de enfermedad de almacenamiento de glicógeno, mucopolisacaridosis, mucopolisacaridosis, oligosacaridosis, lipidosis, esfingolipidosis y enfermedades de transporte lisosomal.
3. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en la que el LSD se escoge de un defecto de hidrolasa lisosomal primario, un defecto de procesamiento postraducciona l de enzimas lisosomales, un defecto de tráfico para enzimas lisosomales, un defecto en la protección de enzimas lisosomales, un defecto en proteínas lisosomales no enzimáticas solubles, un defecto de proteína transmembrana (no enzimática) y un defecto no clasificado.
4. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, en la que el LSD se escoge de enfermedad de Tay-Sachs, la variante AB de enfermedad de Tay-Sachs, enfermedad de Sandhoff, enfermedad de Niemann-Pick tipo A, enfermedad de Niemann-Pick tipo B, enfermedad de Fabry, lipofuscinosis ceroides neuronales, enfermedad de Krabbe, enfermedad de Farber, enfermedad de Gaucher, leucodistrofia metacromática, deficiencia de sulfatasa múltiple, mucopolisacaridosis II, mucopolisacaridosis III, MPS III, MPS VII, gangliosidosis GM1 y aspartilglucosaminuria.
5. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, para retrasar la aparición de un LSD o uno o más síntomas de un LSD que de otra forma se esperaría que se manifestaran según la progresión típica de la enfermedad.
6. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, para revertir la progresión de un LSD o uno o más síntomas asociados con un LSD a lo largo del tiempo, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.
7. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, para mejorar en un sujeto que lo necesita un marcador bioquímico de un LSD a lo largo del tiempo, en la que el uso comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.
8. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 7, en la que el marcador bioquímico es volumen lisosomal aumentado.
9. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en la que el uso comprende iniciar la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de acetil-leucina al sujeto que lo necesita cuando el sujeto es asintomático.
10. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un método según la reivindicación 9, en la que la administración inicial se produce después de que se haya encontrado que el sujeto tiene un marcador genético y/o bioquímico del LSD.
11. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en la que el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de la acetil-leucina al sujeto que lo necesita durante una duración escogida de al menos aproximadamente 3 meses, al menos aproximadamente 6 meses, al menos aproximadamente 1 año, al menos aproximadamente 2 años y al menos aproximadamente 5 años.
12. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que la acetil-leucina es acetil-DL-leucina.
13. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que la acetil-leucina tiene un exceso enantiomérico del enantiómero L o el enantiómero D.
14. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las

reivindicaciones 1-11, en la que la acetil-leucina está en forma enantiomérica individual de o bien el enantiómero L o bien el enantiómero D.

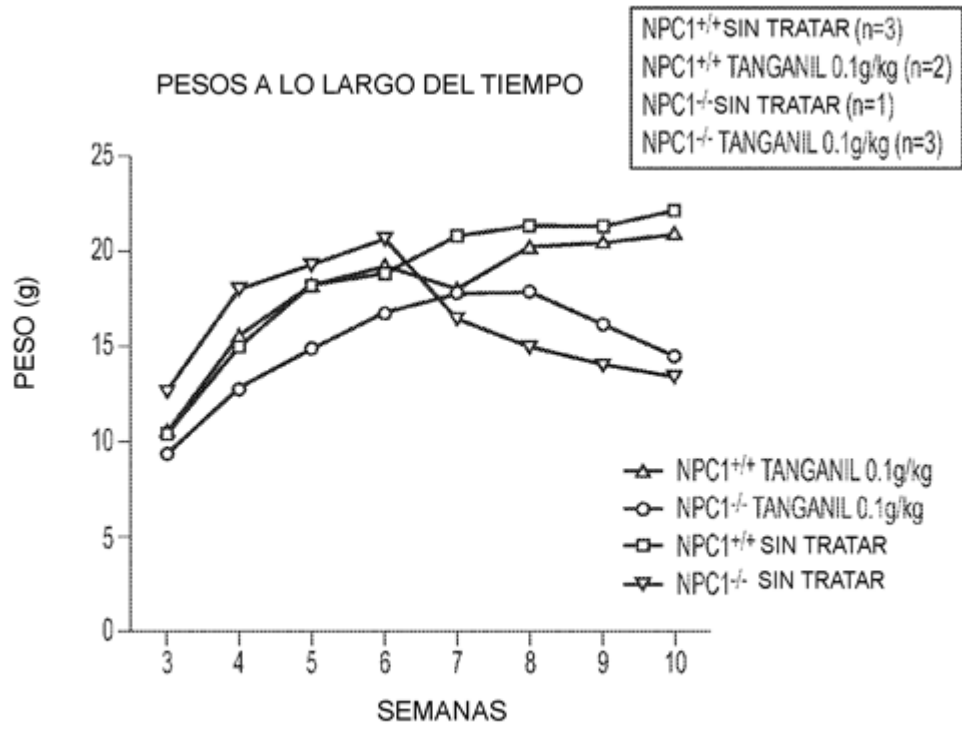
- 5
15. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1-11, en la que el método comprende administrar la acetil-leucina al sujeto que lo necesita a una cantidad terapéuticamente eficaz de desde aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 15 g al día, desde aproximadamente 1 g hasta aproximadamente 10 g al día, desde aproximadamente 1,5 g hasta aproximadamente 7 g al día, desde aproximadamente 4 g hasta aproximadamente 6 g al día o desde aproximadamente 4 g hasta aproximadamente 5 g al día.
- 10
16. Acetil-leucina, o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso según la reivindicación 1, para reducir la gravedad de un LSD o reducir la gravedad de o eliminar uno o más síntomas existentes asociados con un LSD en un sujeto que lo necesita.



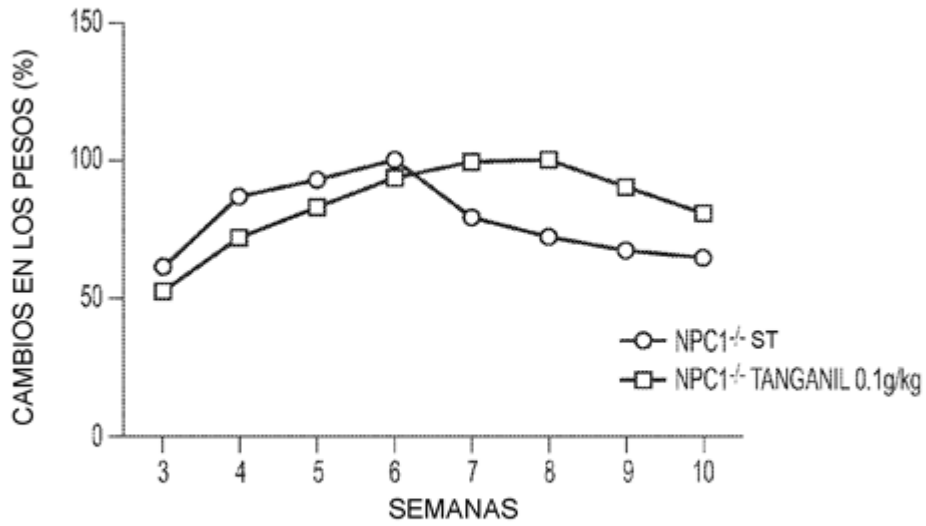
**FIG. 1A**



**FIG. 1B**



**FIG. 2A**



NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)

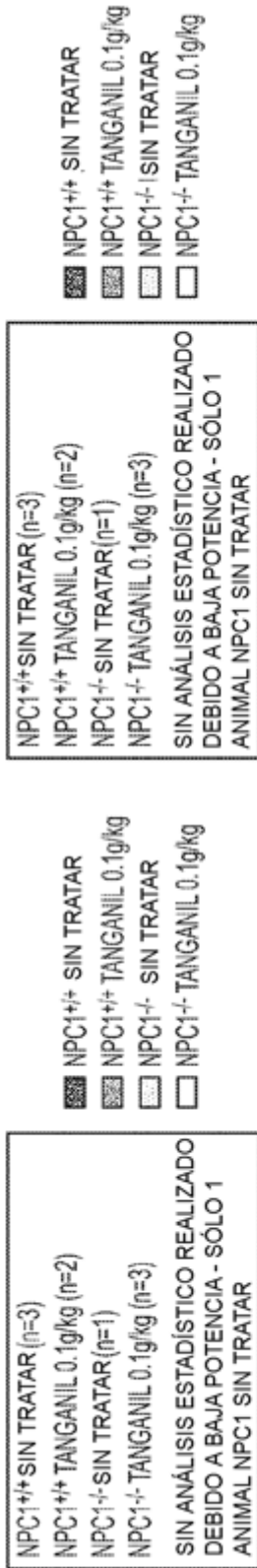
**FIG. 2B**



**FIG. 3A**

**FIG. 3B**





ANÁLISIS DE LA MARCHA DE 8 SEMANAS SECUENCIA DE PASOS

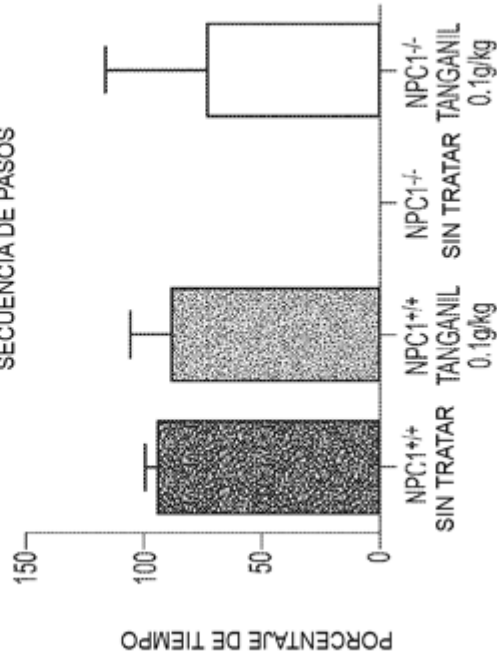
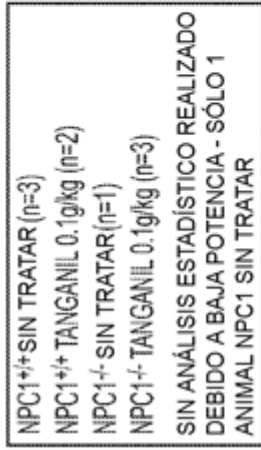


FIG. 3C



ANÁLISIS DE LA MARCHA DE 8 SEMANAS PARÁMETROS DE PATAS DELANTERAS (FP)

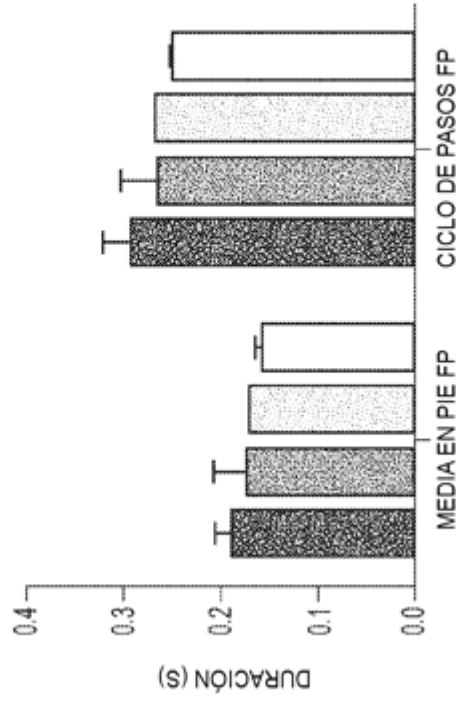
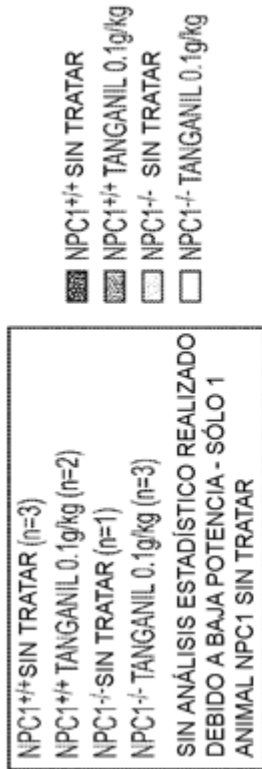
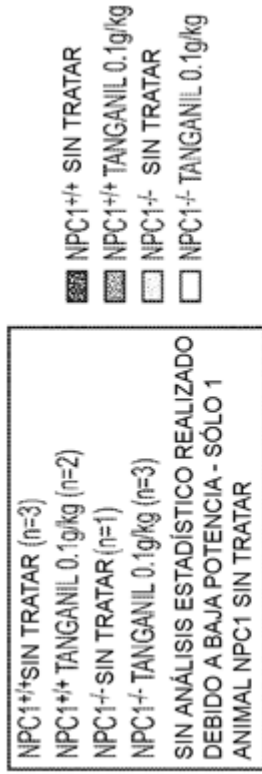
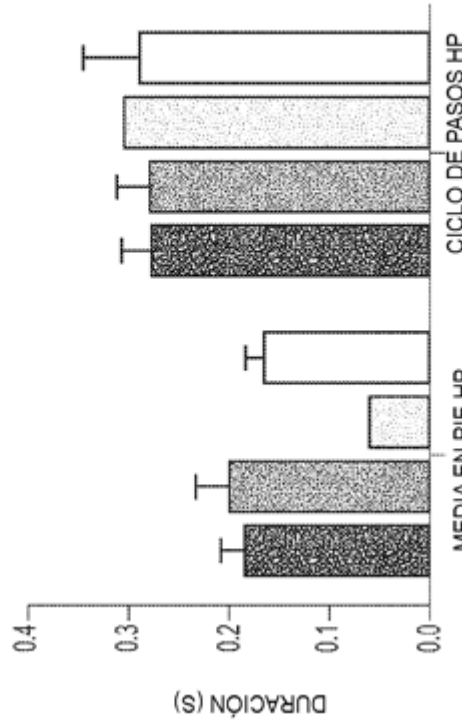


FIG. 3D

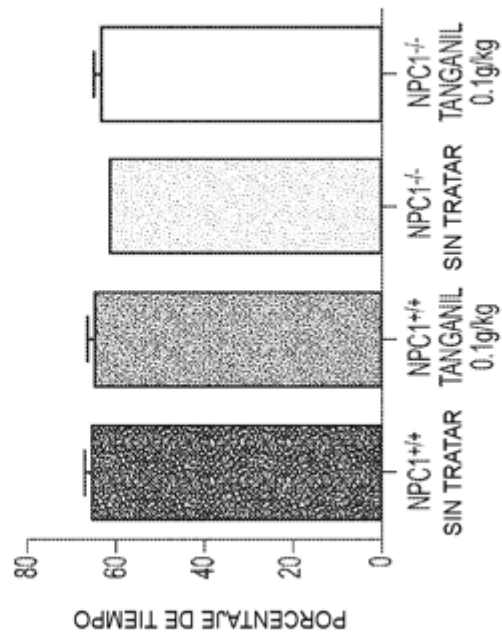


ANÁLISIS DE LA MARCHA DE 8 SEMANAS  
PARÁMETROS DE PATAS TRASERAS (HP)

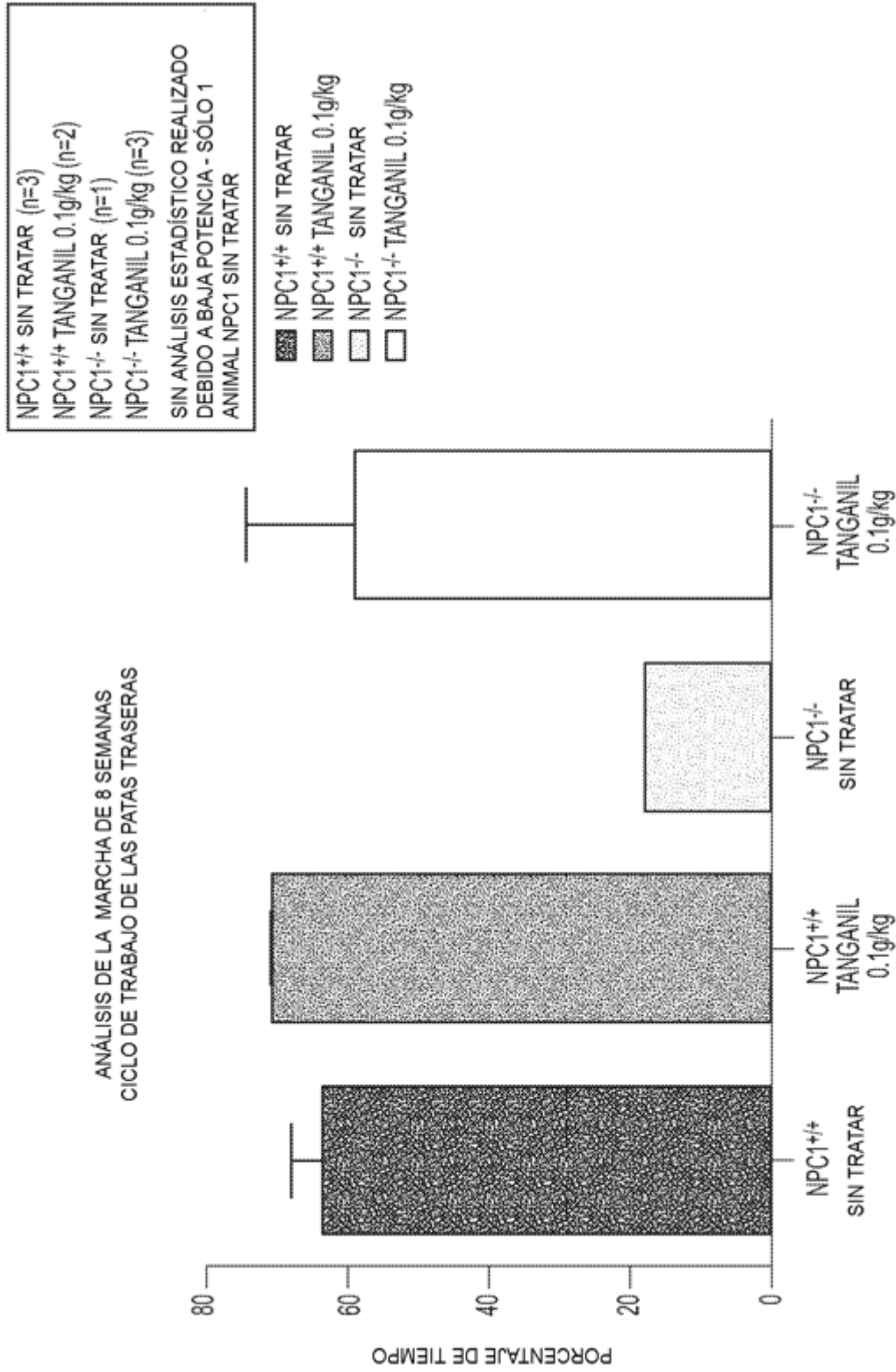


**FIG. 3F**

ANÁLISIS DE LA MARCHA DE 8 SEMANAS  
CICLO DE TRABAJO DE PATAS DELANTERAS



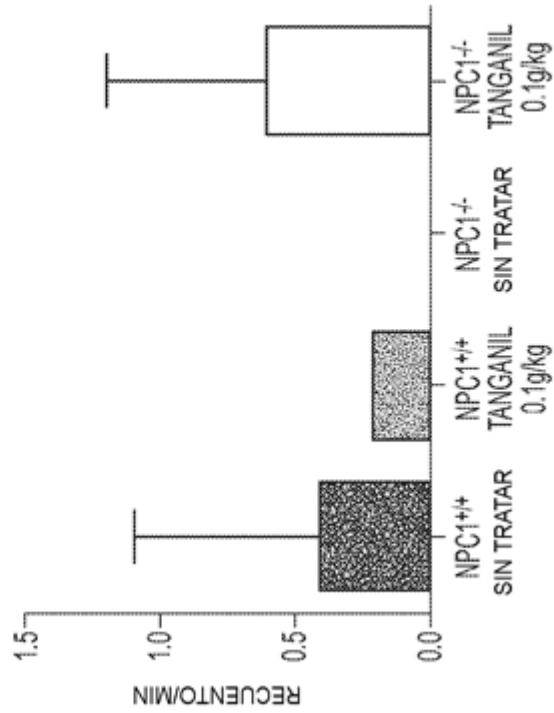
**FIG. 3E**



**FIG. 3G**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

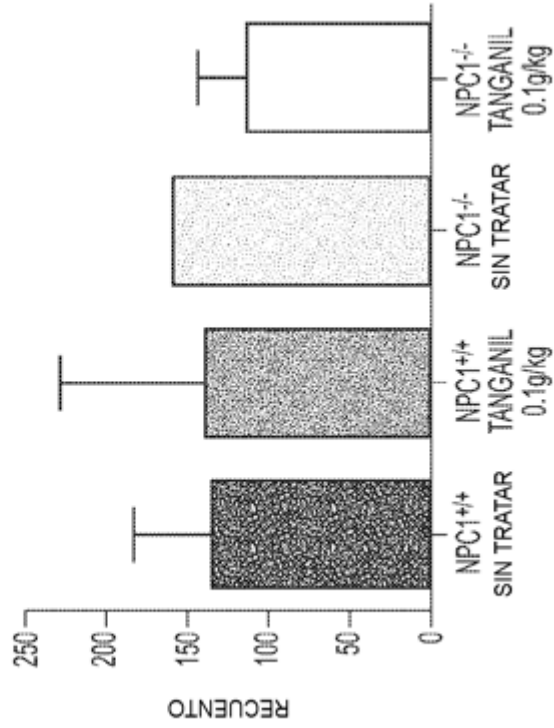
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 ERGUMENTO CENTRAL



**FIG. 4A**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 ACTIVIDAD

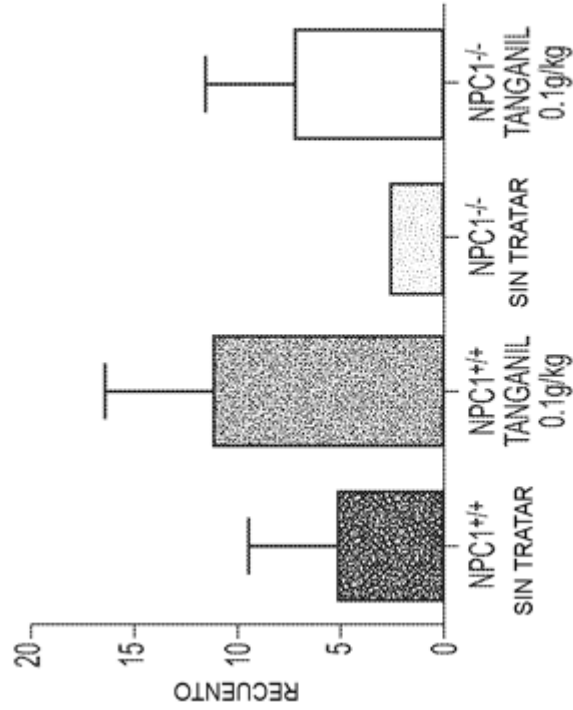


**FIG. 4B**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

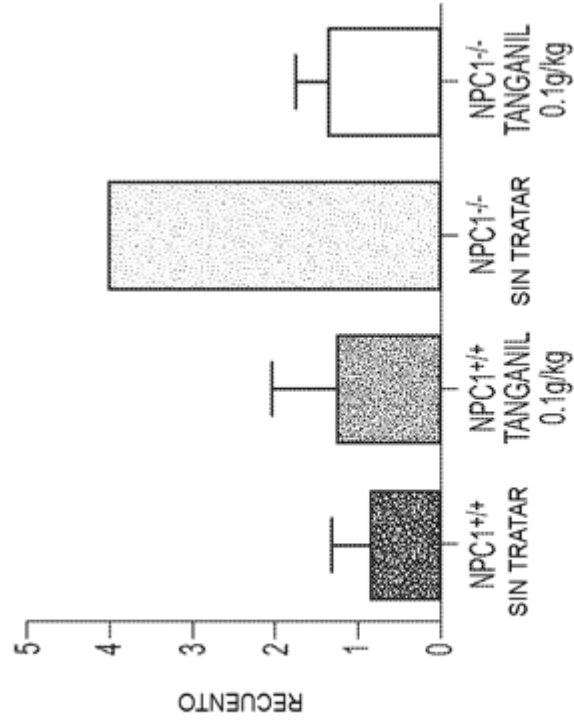
NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 ERGUIMIENTO



**FIG. 4C**

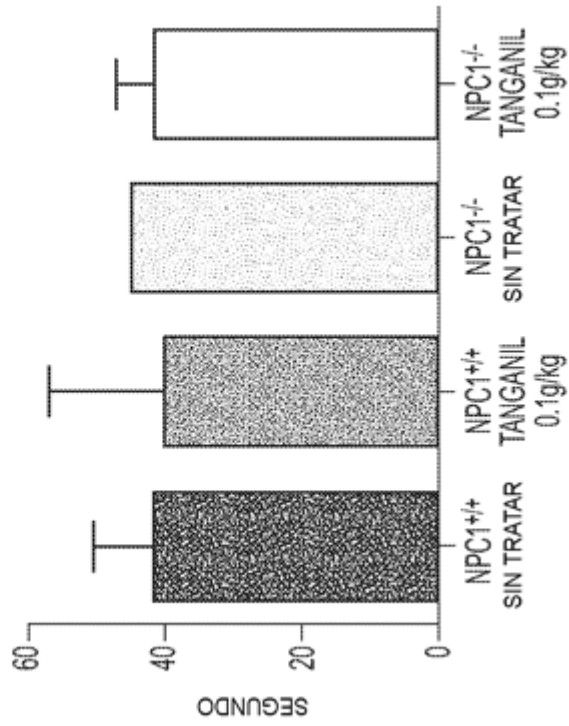
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 RECUENTO FRONTAL A POSTERIOR



**FIG. 4D**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

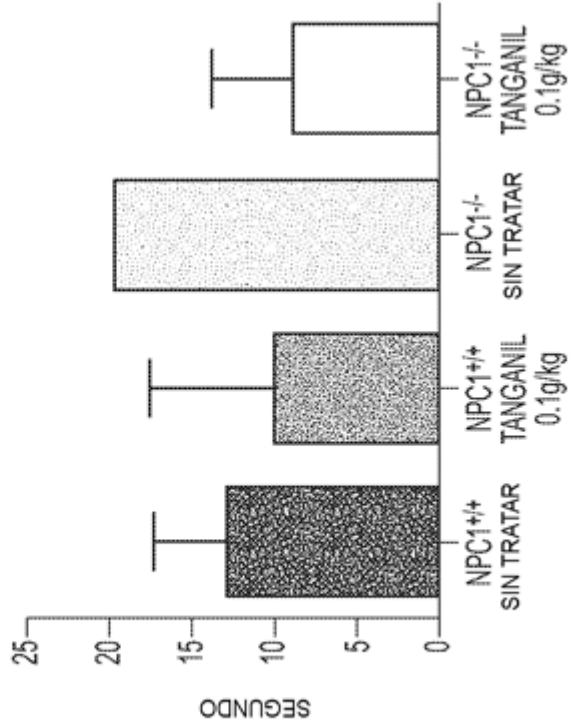
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 TIEMPO ACTIVO (S)



**FIG. 4E**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

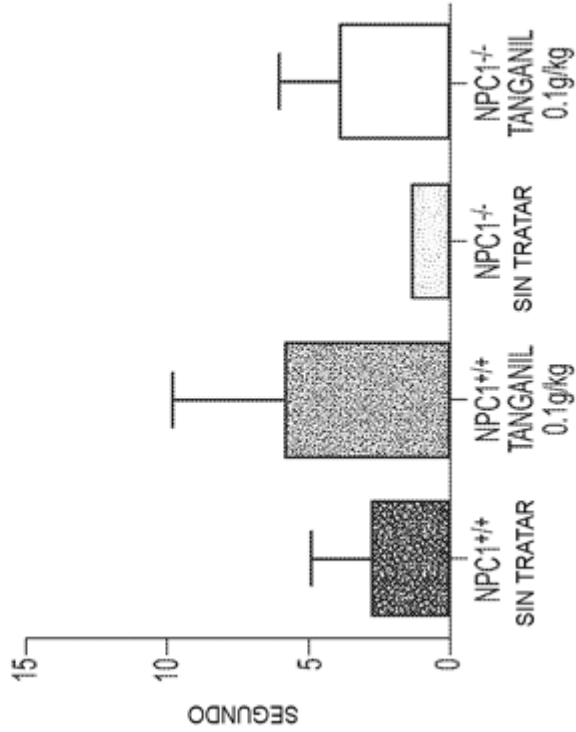
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 TIEMPO MÓVIL (S)



**FIG. 4F**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

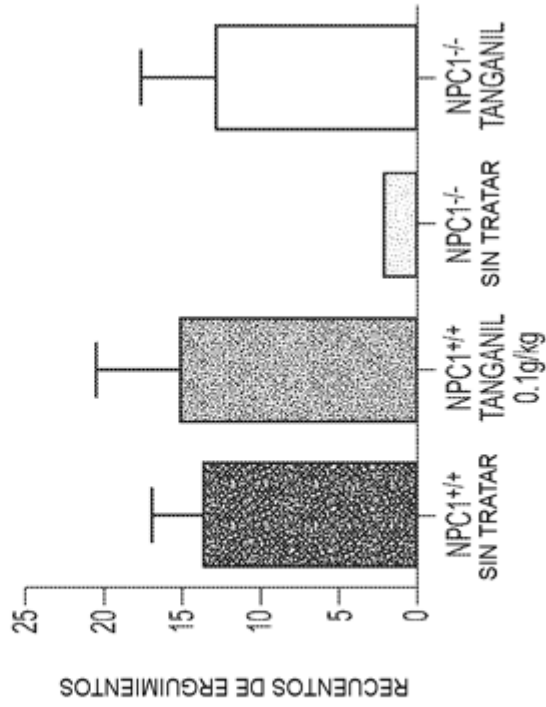
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 TIEMPO DE ERGUMENTO (S)



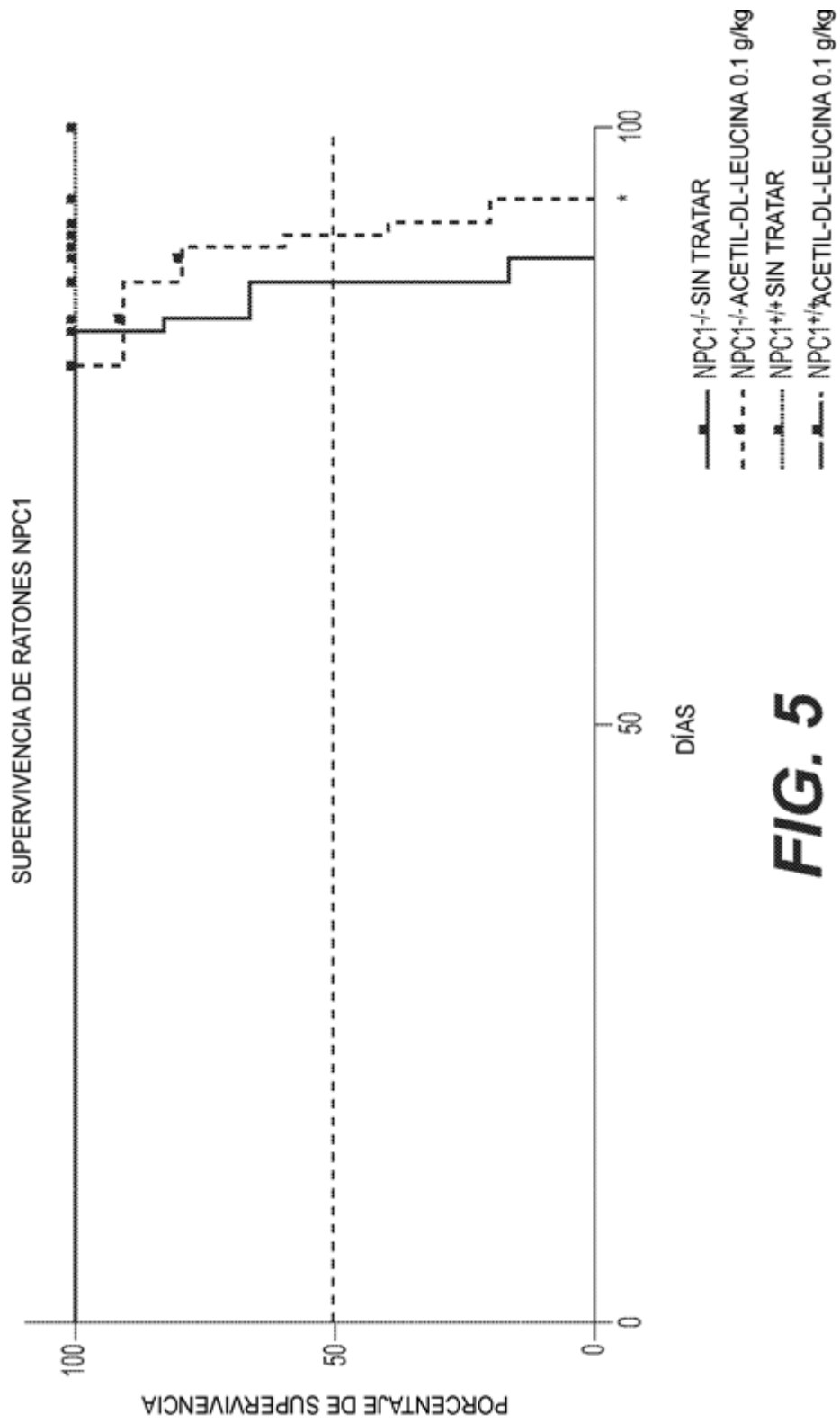
**FIG. 4G**

NPC1<sup>+/+</sup> SIN TRATAR (n=3)  
 NPC1<sup>+/+</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=2)  
 NPC1<sup>-/-</sup> SIN TRATAR (n=1)  
 NPC1<sup>-/-</sup> TANGANIL 0.1g/kg (n=3)  
 SIN ANÁLISIS ESTADÍSTICO REALIZADO  
 DEBIDO A BAJA POTENCIA - SÓLO 1  
 ANIMAL NPC1 SIN TRATAR

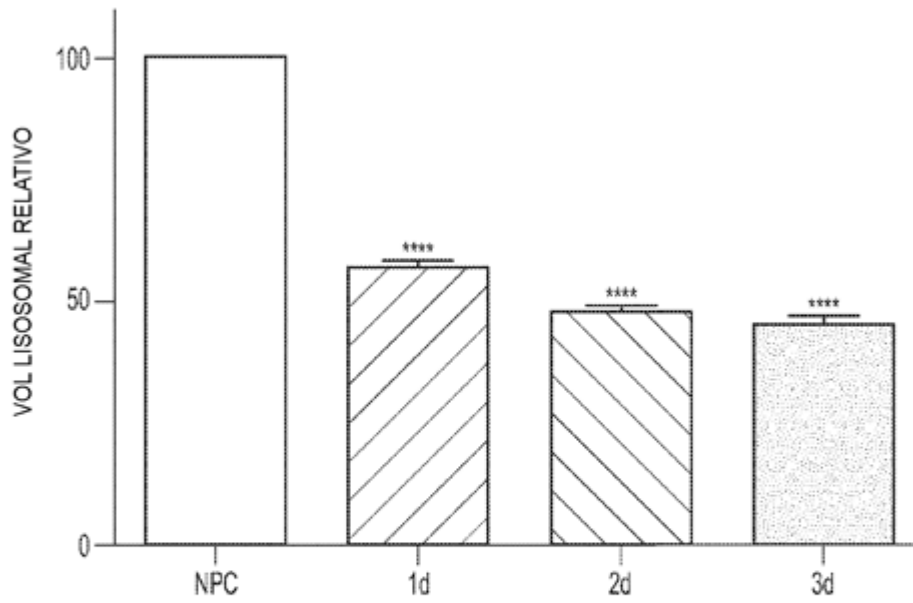
ANÁLISIS DE LA FUNCIÓN MOTORA A LAS 9 SEMANAS  
 RECUENTO DE ERGUMENTO MANUAL TOTAL



**FIG. 4H**

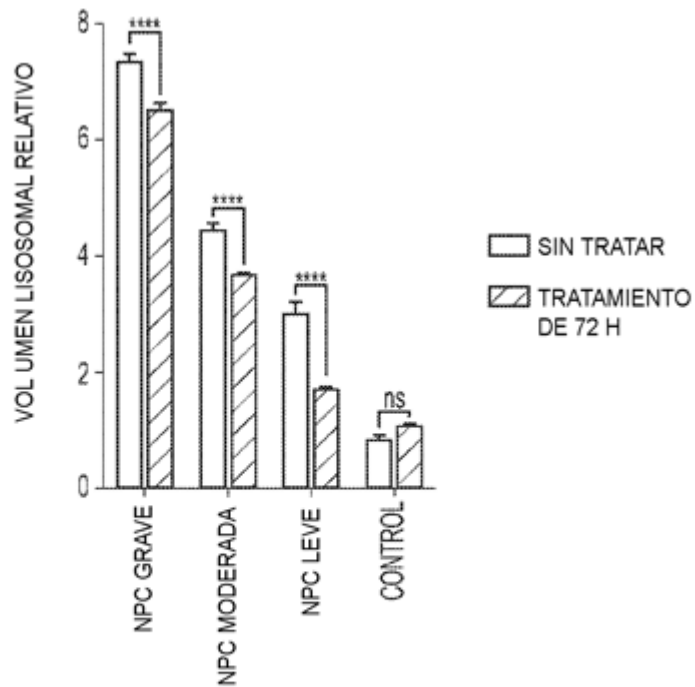






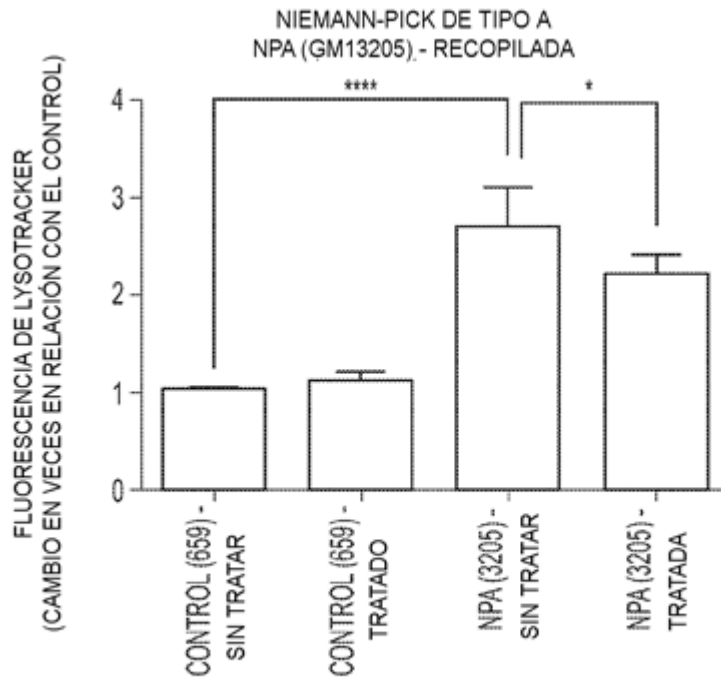
**FIG. 6A**

TRATAMIENTO CON ACETIL-DL-LEUCINA 1 mM DE 72 h EN FIBROBLASTOS CON NPC

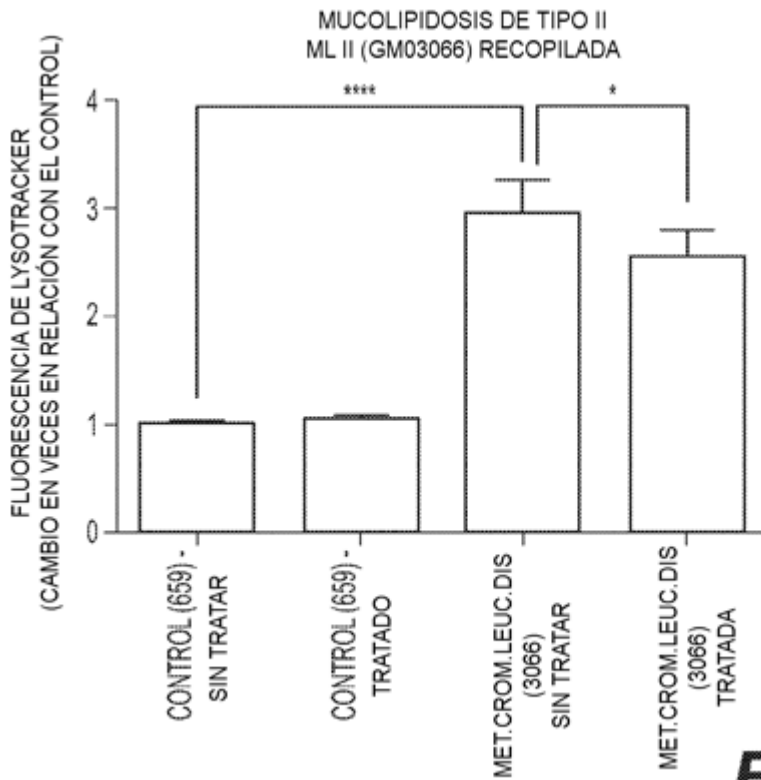


LÍNEAS CELULARES DE NPC

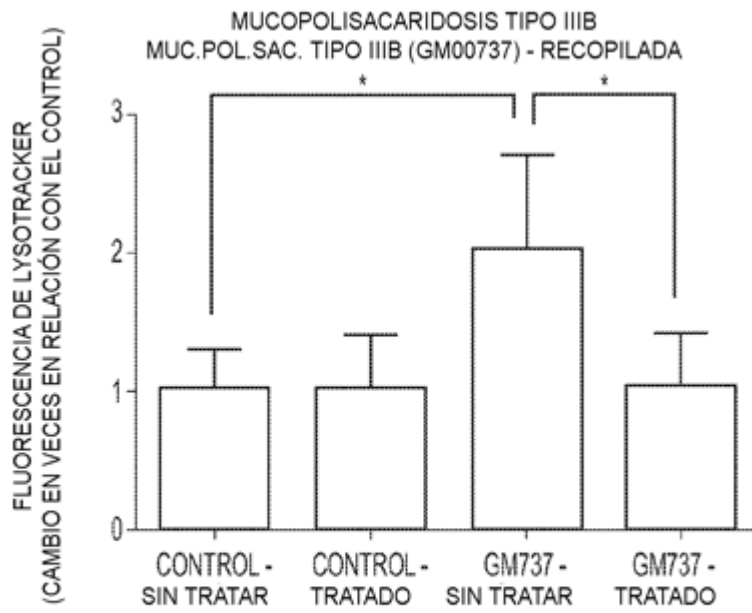
**FIG. 6B**



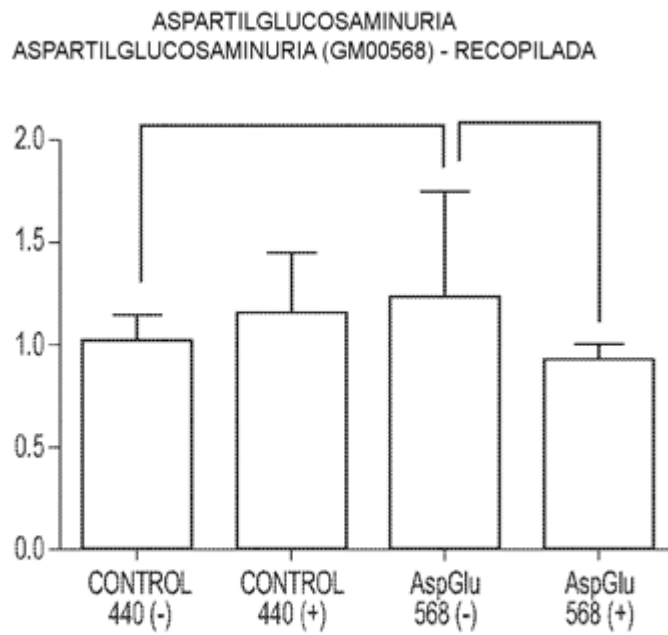
**FIG. 6C**



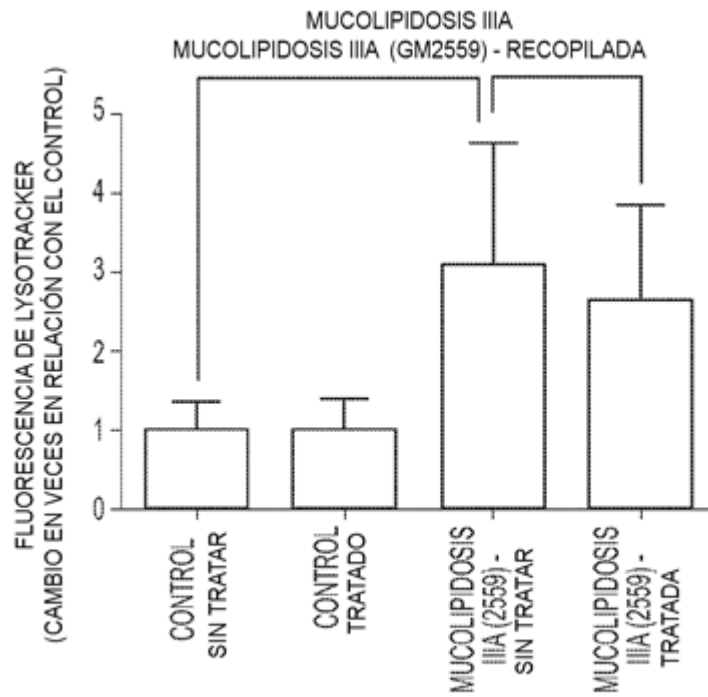
**FIG. 6D**



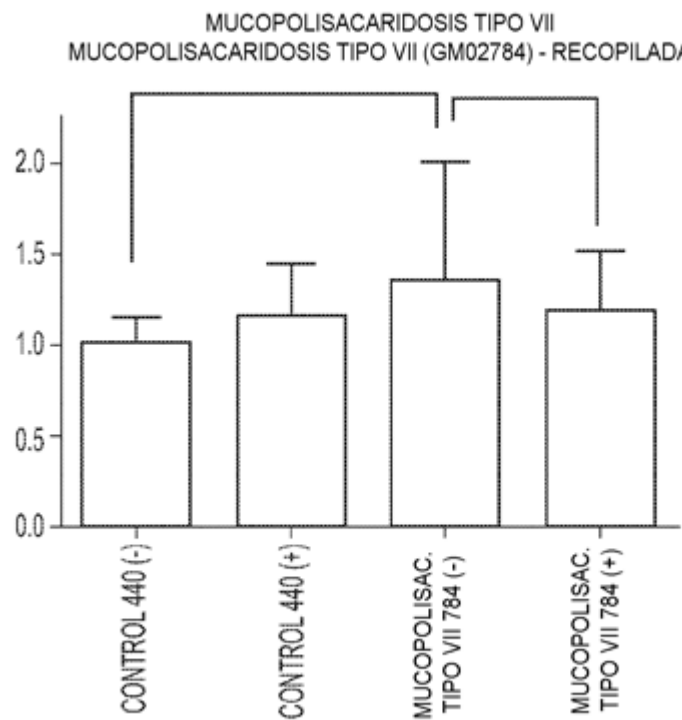
**FIG. 6E**



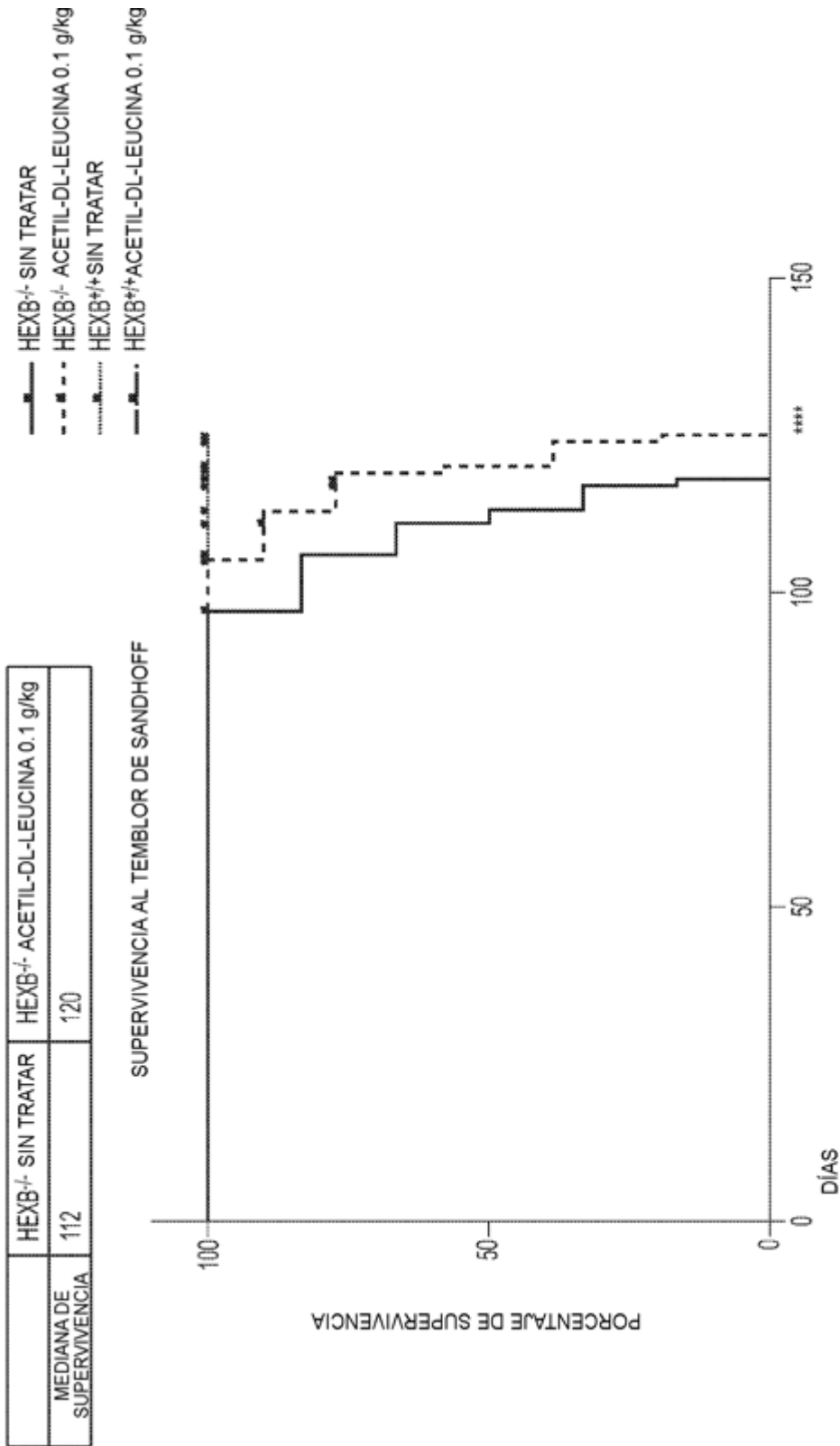
**FIG. 6F**



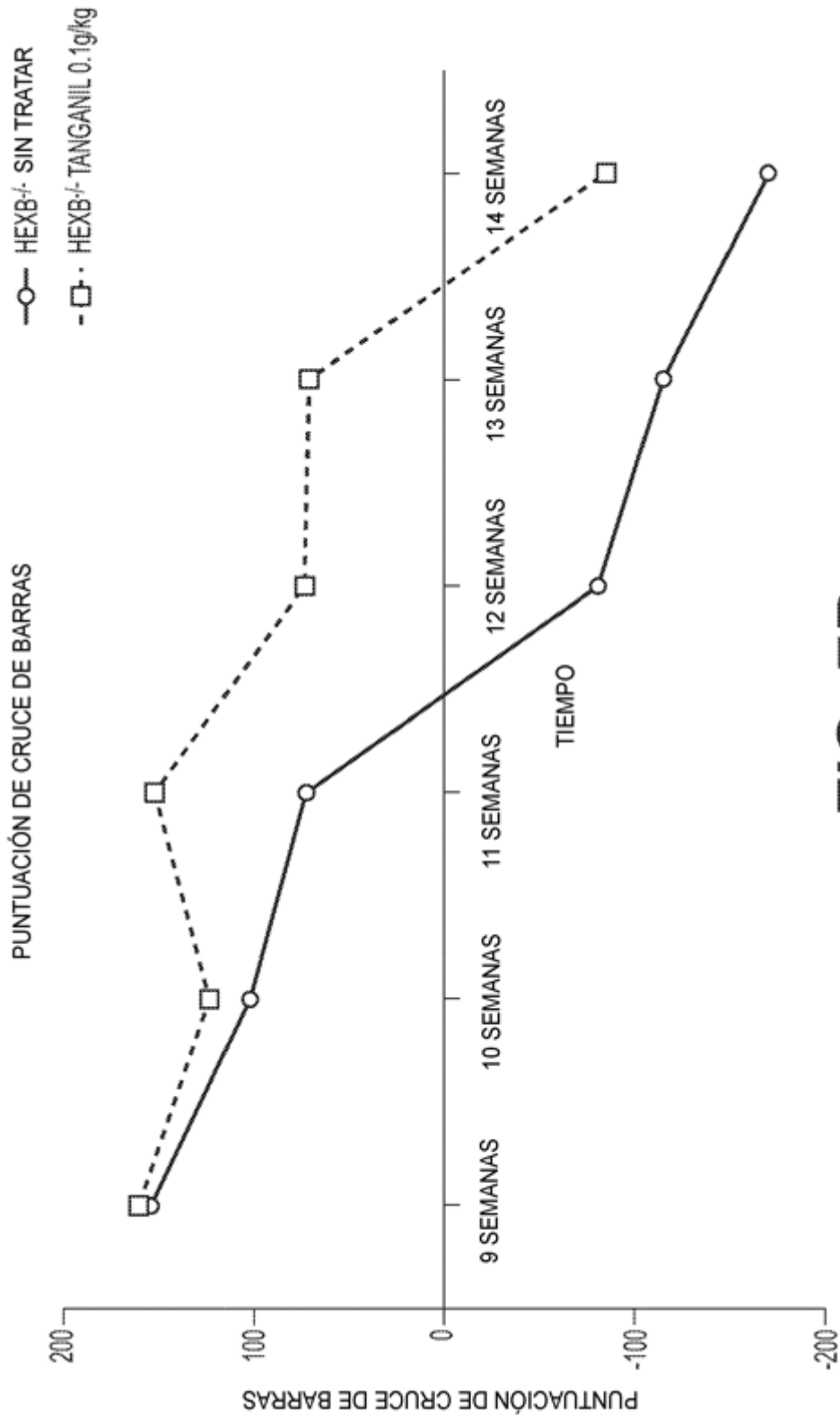
**FIG. 6G**



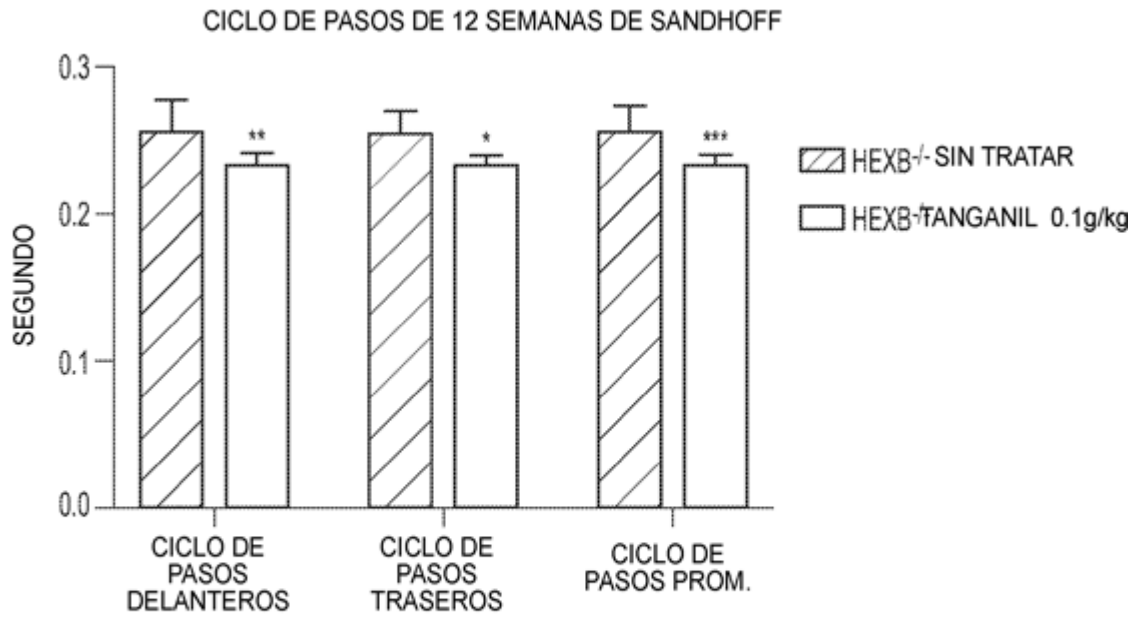
**FIG. 6H**



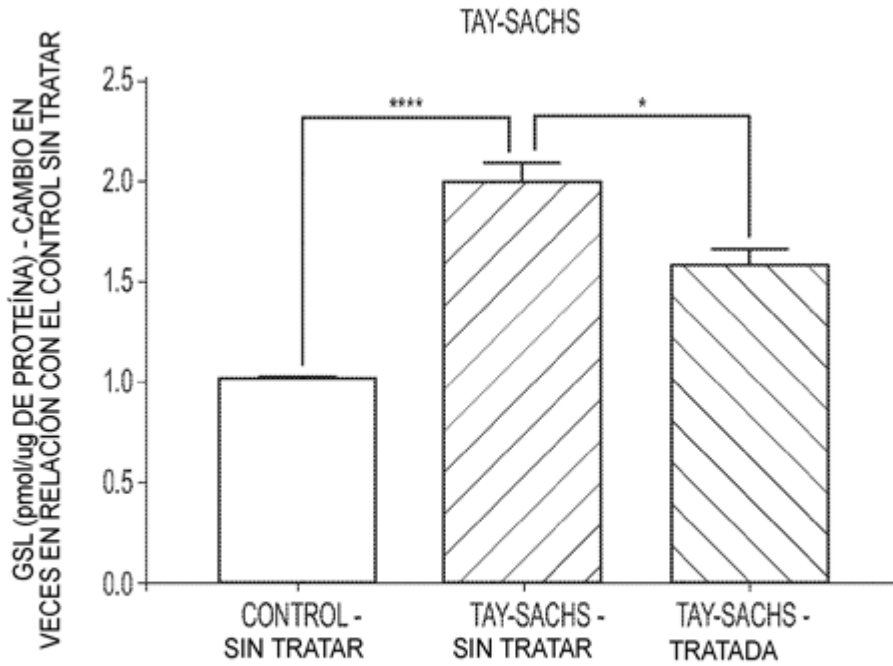
**FIG. 7A**



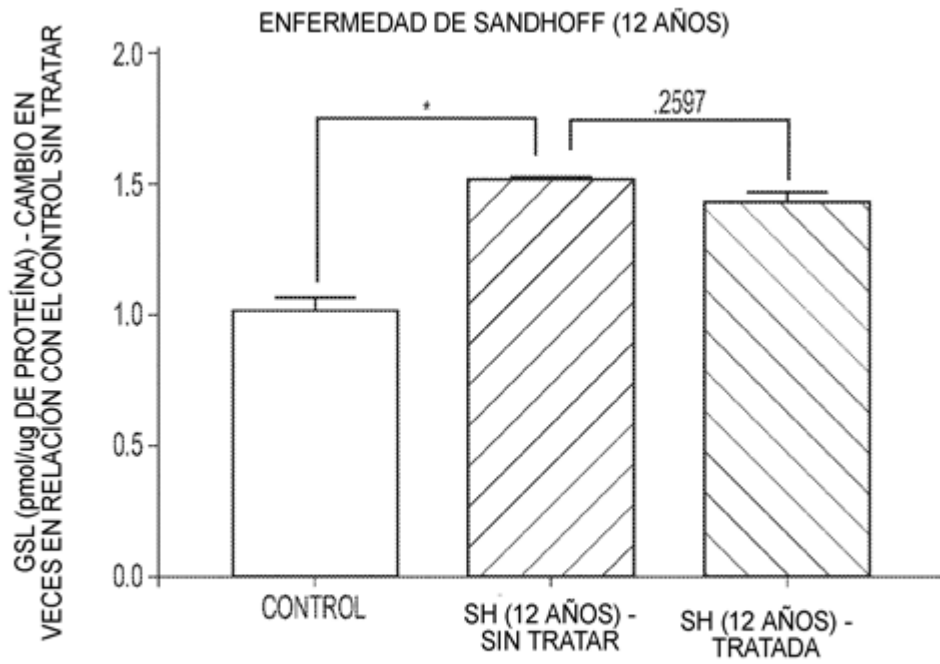
**FIG. 7B**



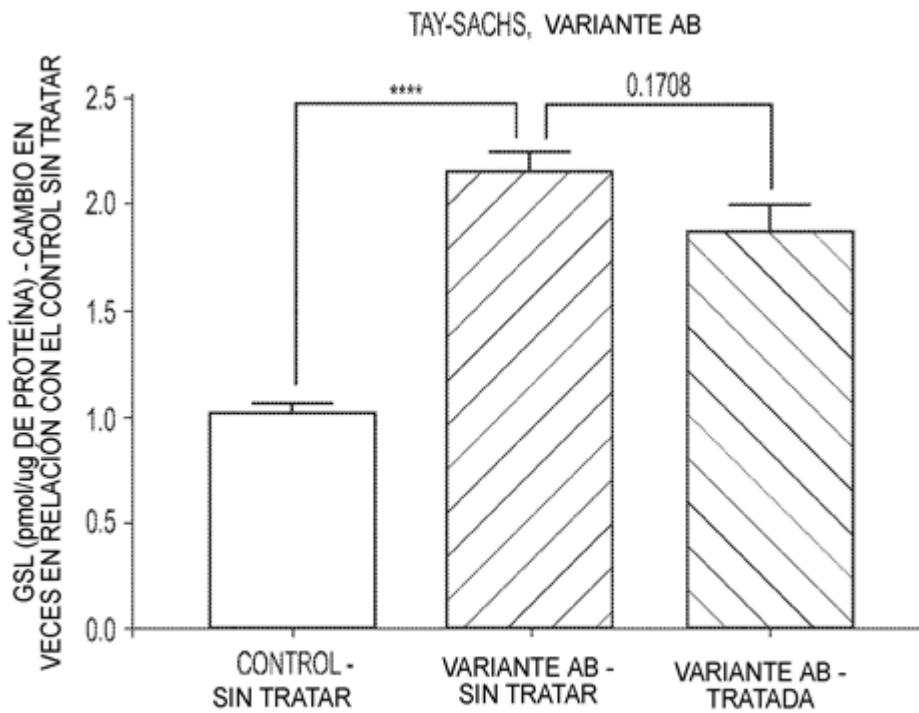
**FIG. 7C**



**FIG. 8A**

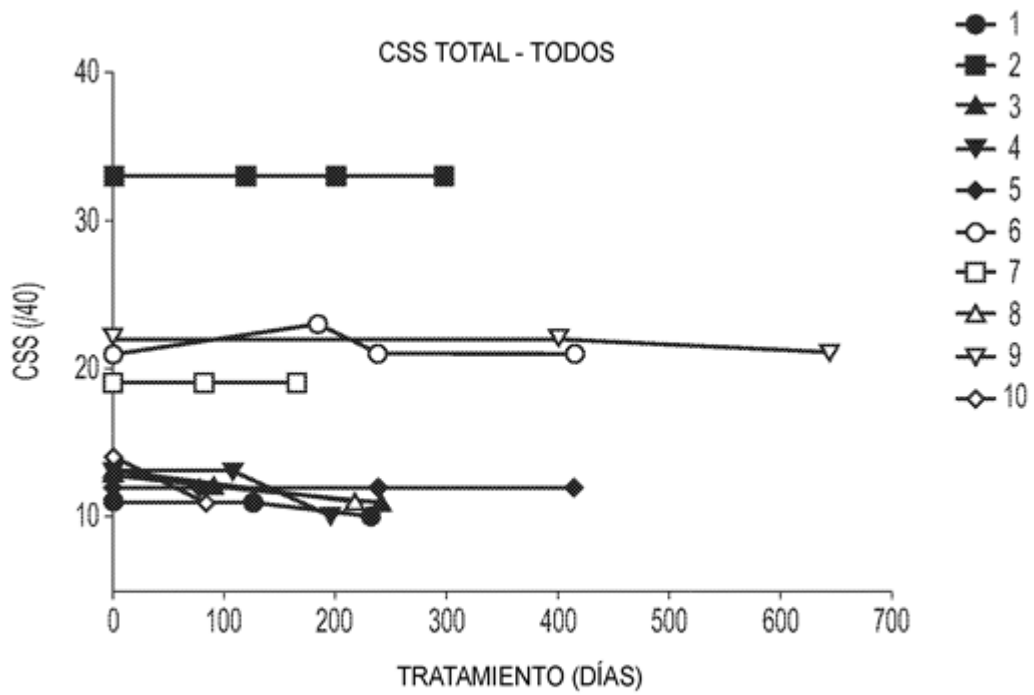


**FIG. 8B**

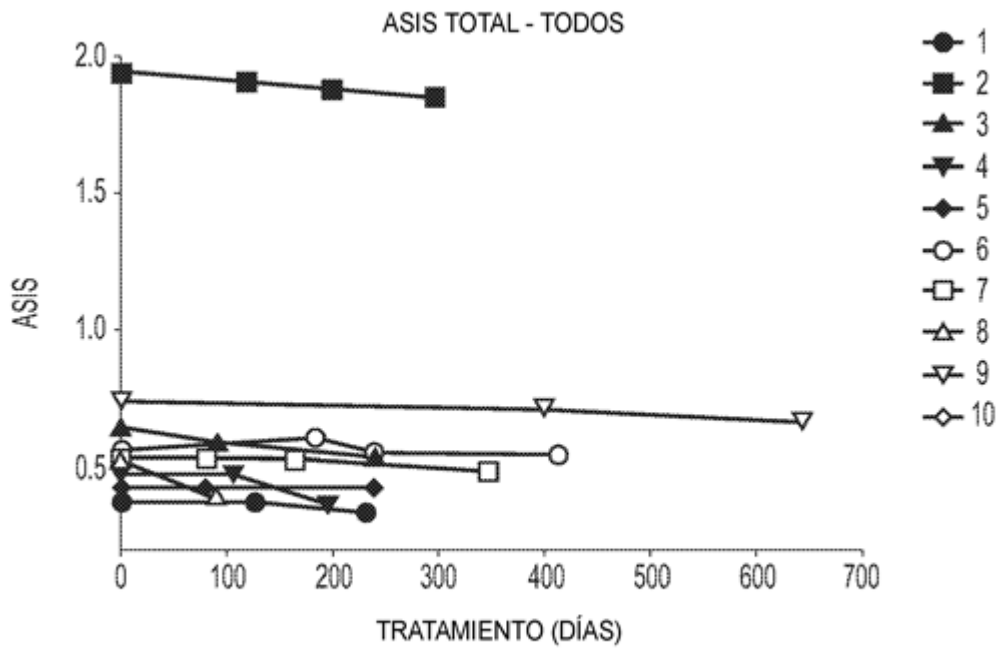


**FIG. 8C**

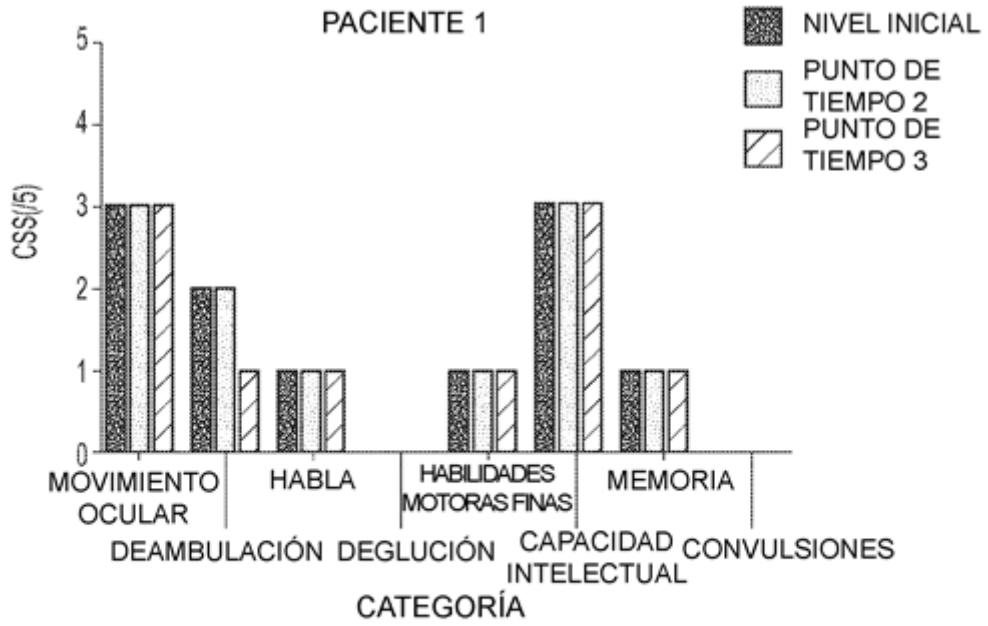




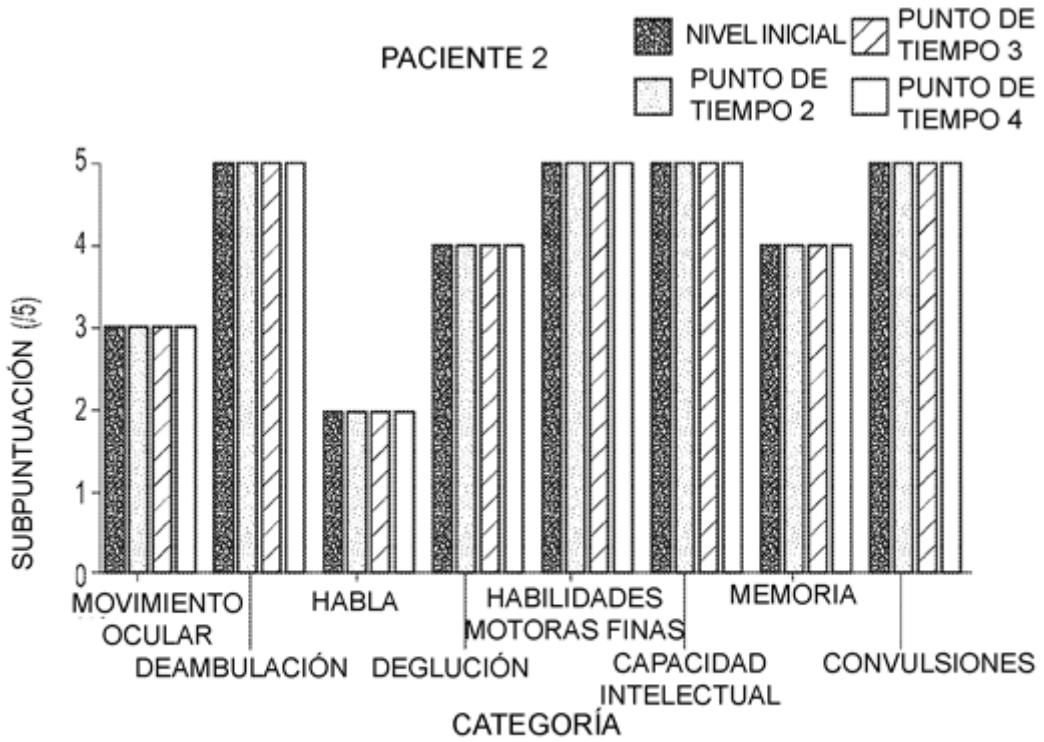
**FIG. 9A**



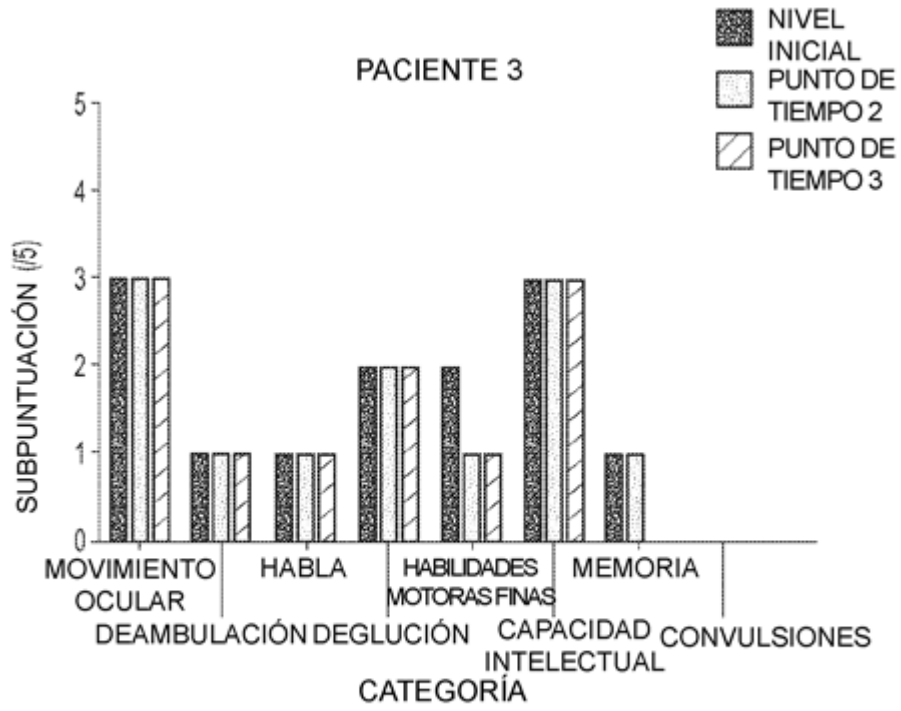
**FIG. 9B**



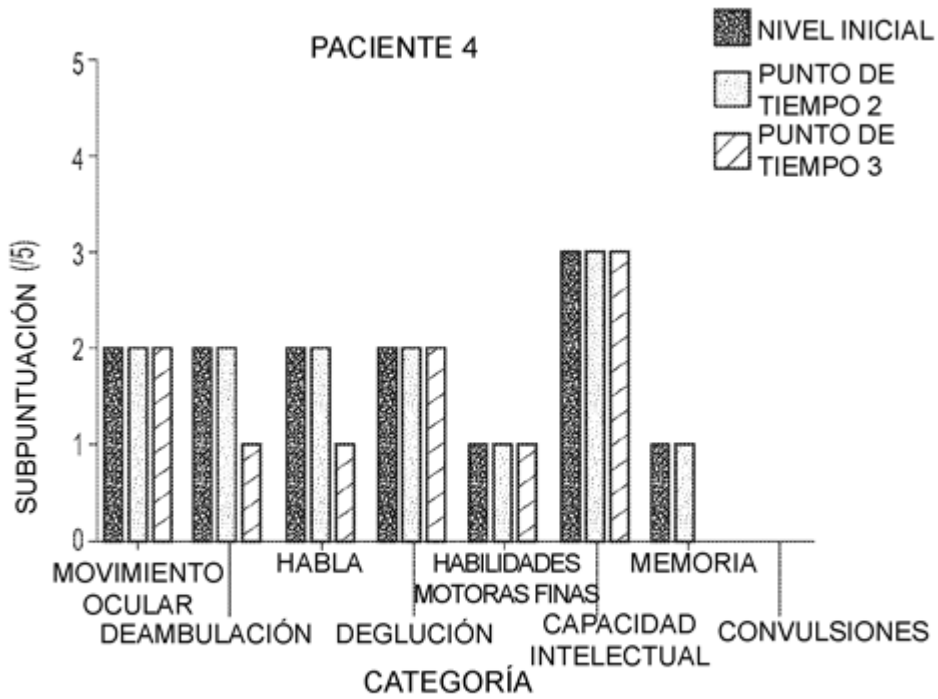
**FIG. 10A**



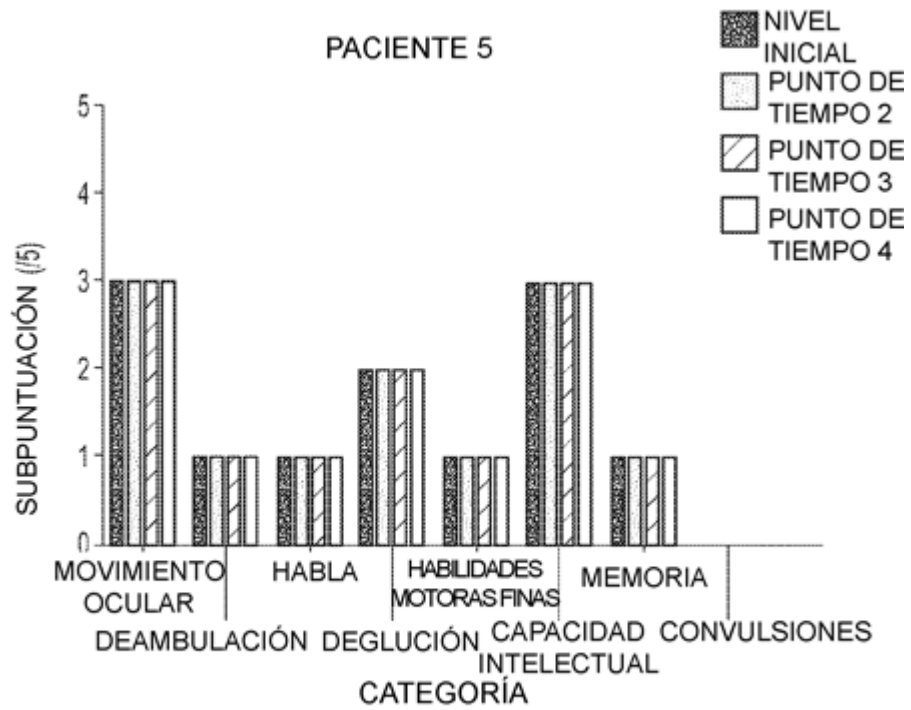
**FIG. 10B**



**FIG. 10C**

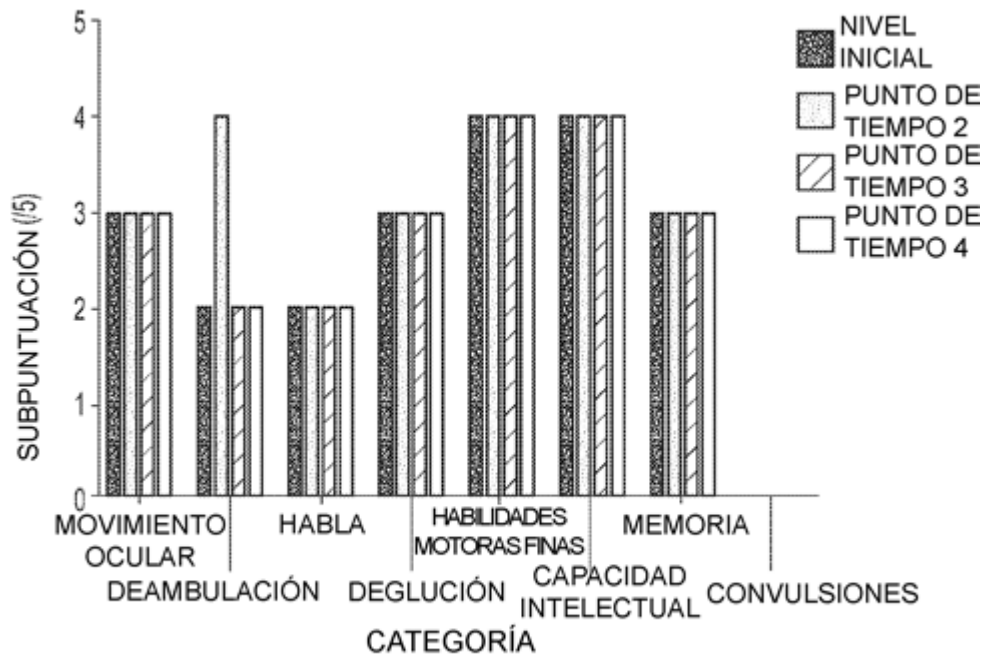


**FIG. 10D**

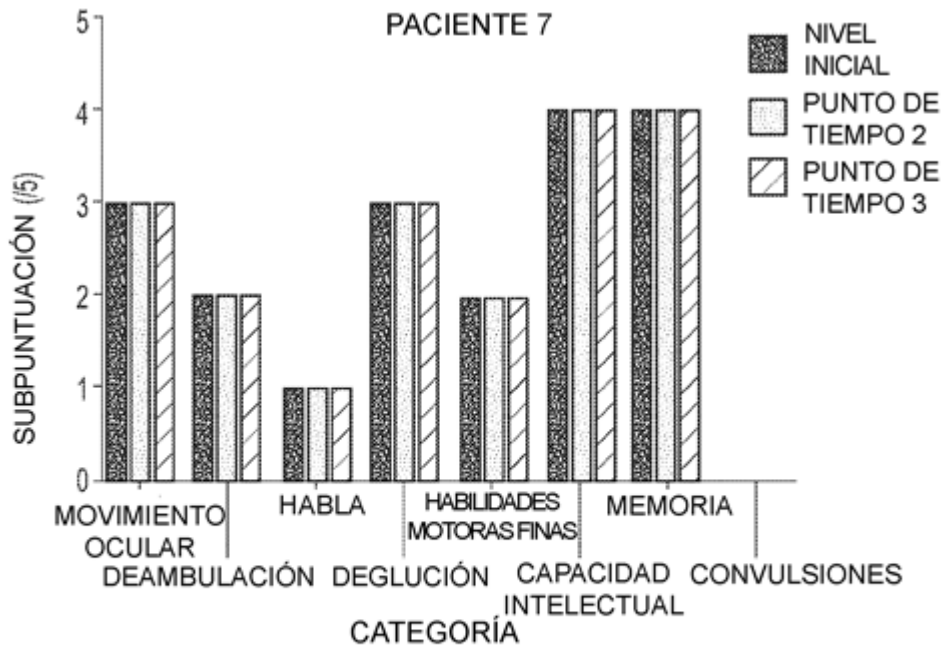


**FIG. 10E**

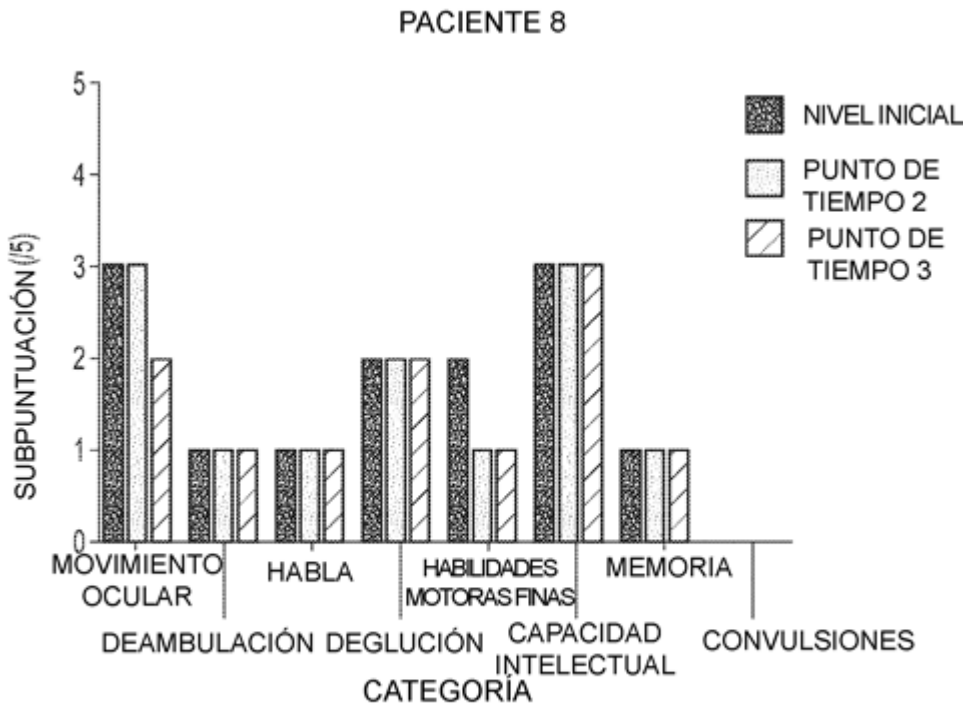
PACIENTE 6



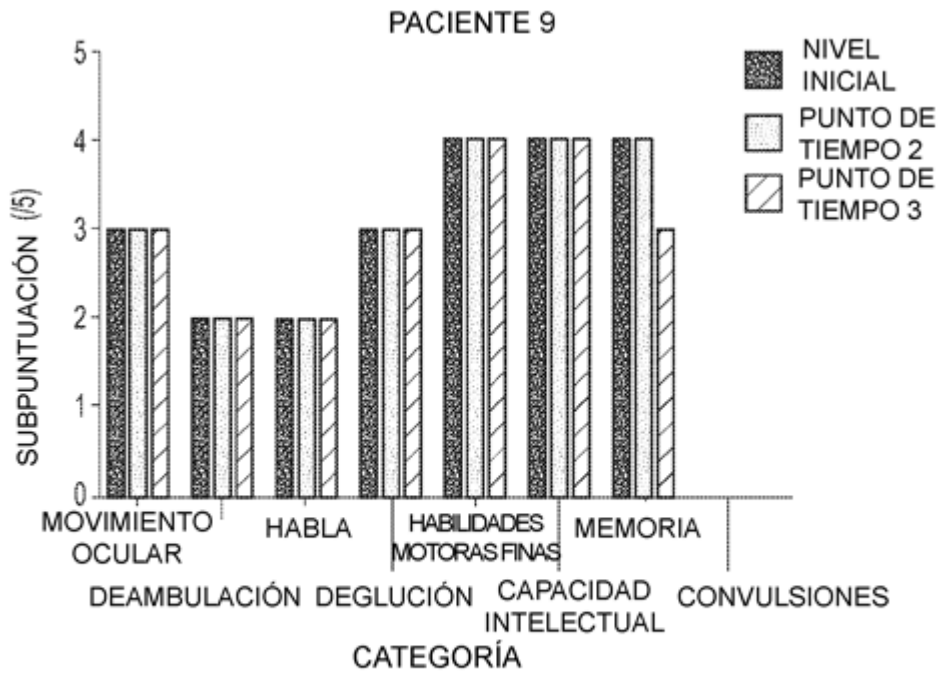
**FIG. 10F**



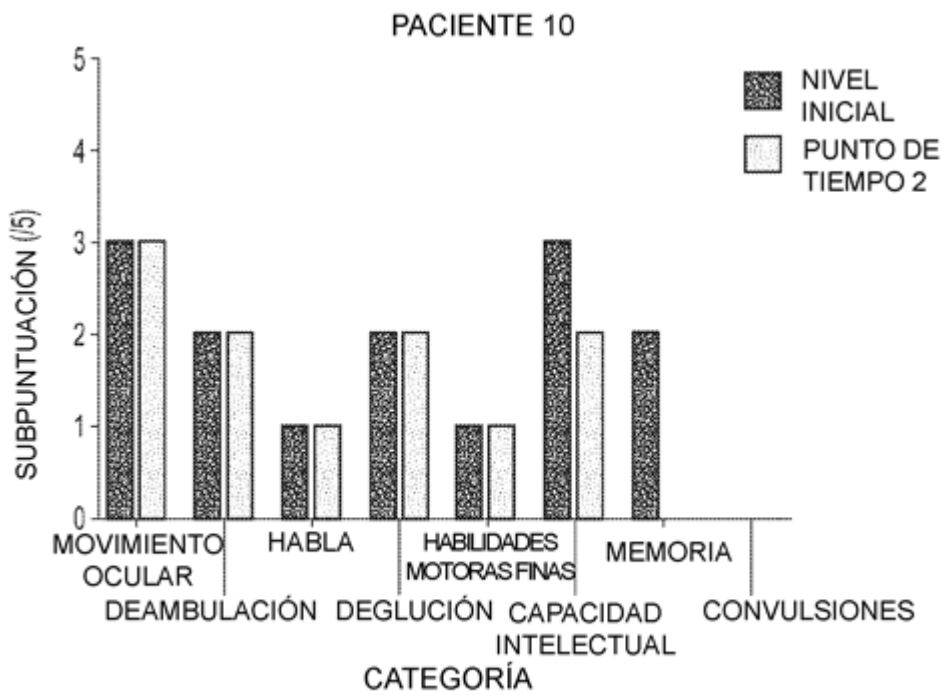
**FIG. 10G**



**FIG. 10H**



**FIG. 10I**



**FIG. 10J**