

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 363 353**

21 Número de solicitud: 201000060

51 Int. Cl.:

A61K 38/19 (2006.01)

A61K 38/18 (2006.01)

C07K 14/495 (2006.01)

C07K 14/52 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación: **19.01.2010**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **01.08.2011**

Fecha de la concesión: **10.02.2012**

45 Fecha de anuncio de la concesión: **22.02.2012**

45 Fecha de publicación del folleto de la patente:
22.02.2012

73 Titular/es:

**UNIVERSIDAD DE SEVILLA
OTRI-PABELLÓN DE BRASIL
PASEO DE LAS DELICIAS, S/N
41013 SEVILLA, ES**

72 Inventor/es:

**FERNÁNDEZ ESPEJO, EMILIO y
GONZÁLEZ APARICIO, RAMIRO**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

54 Título: **COMPOSICIÓN QUE COMPRENDE GDNF Y TGF-BETA1 Y SU USO PARA EL TRATAMIENTO DE UNA ENFERMEDAD NEUROLÓGICA.**

57 Resumen:

Composición que comprende GDNG y TGF- β_{1} y su uso para el tratamiento de enfermedad neurológica.

Composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y el factor transformante beta 1 (TGF- β_{1}) en un rango de concentraciones de GDNF:TGF- β_{1} de entre 2:1 a 4:1. Asimismo la presente invención se refiere al uso de dicha composición farmacéutica para la elaboración de un medicamento para el tratamiento una enfermedad neurológica. Preferiblemente la enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa. Dicha enfermedad puede cursar con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios. Preferiblemente la enfermedad es Parkinson.

ES 2 363 353 B1

DESCRIPCIÓN

Composición que comprende GDNF y TGF- β_1 y su uso para el tratamiento de una enfermedad neurológica.

La presente invención se enmarca dentro del campo de la neurobiología y de la biomedicina y se refiere a una composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y el factor transformante beta 1 (TGF- β_1) en un rango de concentraciones de GDNF:TGF- β_1 de entre 2:1 a 4:1. Asimismo la presente invención se refiere al uso de dicha composición farmacéutica para la elaboración de un medicamento para el tratamiento una enfermedad neurológica. Preferiblemente la enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa. Dicha enfermedad puede cursar con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios. Preferiblemente la enfermedad es Parkinson.

Estado de la técnica anterior

La enfermedad de Parkinson (EP) es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la muerte progresiva de neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra, lo que produce disminución de la concentración de dopamina estriatal, condicionando aparición de rigidez muscular, lentitud de movimientos y temblor, síntomas que caracterizan a la EP.

Hasta ahora, debido a que la dopamina no puede cruzar la barrera hematoencefálica (BHE) el tratamiento más efectivo era la administración oral de levodopa, precursor de dopamina, que se absorbe por el intestino delgado y cruza la barrera hematoencefálica penetrando en el cerebro.

Desde su introducción en la medicina a inicios de la década de 1960, la L-3,4-dihidroxifenilalanina o levodopa se ha convertido en uno de los fármacos más sorprendentes en neurología. Y, aunque después de 50 años, continúa siendo el principal fármaco para tratar la EP, en los últimos años, diversas investigaciones han aportado nuevos conocimientos sobre los mecanismos de acción y fisiopatología de las complicaciones inducidas por ella.

La levodopa absorbida es convertida a dopamina por la enzima dopadecarboxilasa (DDC). La conversión de levodopa en dopamina es altamente eficiente y es la dopamina que circula en el plasma, la que produce múltiples y frecuentes efectos adversos.

Las altas dosis empleadas y el alto porcentaje de conversión de la levodopa en dopamina hacían que sólo el 5% de la levodopa administrada alcanzara el sistema nervioso central. Por ello, se ralentizó el uso clínico masivo de levodopa hasta la introducción de inhibidores de DDC que incrementaban en un 25% la cantidad de levodopa que iba al Sistema Nervioso Central. Esto marcó el inicio de una combinación terapéutica que se mantiene en la actualidad.

La levodopa cruza la BHE por medio de transportadores de la misma clase que permiten su ingreso desde el intestino. Una vez en la circulación encefálica, entra a la neurona directamente y es convertida mediante la DDC en dopamina.

El efecto de la levodopa es ejercido fundamentalmente a través de la dopamina producida en la neurona. La dopamina actúa estimulando directamente los receptores dopaminérgicos tipo 1 y tipo 2. La dopamina liberada al espacio sináptico es recaptada por la neurona dopaminérgica.

Probablemente, la levodopa además de convertir-

se en dopamina, sufre transformación a noradrenalina, así como a productos trazas de aminas, los cuales actúan en receptores no dopaminérgicos. Del mismo modo la dopamina sería capaz de estimular receptores GABA inhibitorios en la sustancia negra.

Por otro lado, recientes estudios demuestran que de los pacientes que llevan 5 años de tratamiento con levodopa, cerca de 40% desarrollan complicaciones motoras y aparición de movimientos involuntarios o discinesias. Además, estudios *in vitro* muestran muerte neuronal acelerada por la presencia de levodopa, por lo que se está planteando la posibilidad de que la levodopa sea tóxica.

Una alternativa a la levodopa la encontramos en el empleo de factores neurotróficos, moléculas requeridas por las neuronas para su desarrollo, migración y mantenimiento trófico que se expresan en distintas regiones del sistema nervioso.

Dentro de las potenciales familias de factores neurotróficos con capacidad terapéutica, numerosos estudios demuestran que el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) es una potente molécula que protege a las neuronas dopaminérgicas de la neurodegeneración en modelos animales de EP, cuando se inyecta por ejemplo por vía intraventricular, o por medio de células trasplantadas o virus (Lin, L. F. *et al.*, 1993. *Science* 260, 1130-1132; Tseng, J. L. *et al.*, 1997. *J. Neurosci.* 17, 325-333; Gash, D. M., *et al.*, 1998. *Ann. Neurol. (suppl.)* 44, G121-S125; Wider, C., *et al.*, 2006. *Rev. Med. Suisse* 2, 1158-1162).

El GDNF induce arborización o "sprouting" de neuronas de dopamina, de tal modo que la inhibición de GDNF con "antisenses" reduce el "sprouting" tras daño estriatal (Batchelor, P. E., *et al.*, 2000. *Eur. J. Neurosci.* 12, 3462-3468), actúa reduciendo la degeneración de las fibras dopaminérgicas, proceso regulado por el sistema ubiquitina-proteosoma pues la inhibición de este sistema aumenta la degeneración neuronal (McNaught, K. S., *et al.*, 2002. *J. Neurochem.* 81, 301-306), protege al proteosoma suprimiendo el estrés del retículo y la activación de caspasas-3 (Li, X., *et al.*, 2007. *J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci.* 62, 943-950.) y, finalmente, también incrementa la actividad y expresión de la enzima tirosina-hidroxilasa o TH, que sintetiza dopamina.

Aunque el uso de GDNF como terapia neurotrófica ya se ha realizado, ha encontrado dificultades, pues por una parte el GDNF debido a su tamaño tiene grandes dificultades en atravesar la barrera hematoencefálica, y por otra, su empleo en animales es difícil de extrapolar a humanos por la diferencia en el tamaño cerebral.

El GDNF ha fracasado en ensayos clínicos, y su administración intracerebroventricular (ICV) mediante bolos (25 a 4000 μg . por dosis) o por infusión crónica con bombas osmóticas (3 a 50 μg . por día) no ha mostrado gran eficacia terapéutica. Además los efectos adversos han sido frecuentes, como náuseas (70% de los pacientes), parestesias (50% de los pacientes), y pérdida de peso. El empleo de trasplantes celulares con células que segregan GDNF también se ha acompañado de dificultades serias, como la aparición de discinesias, o la difícil difusión de GDNF por el parénquima cerebral.

Recientemente se ha visto que el GDNF necesita del cofactor TGF- β_1 (factor de crecimiento transformante β_1) para tener actividad trófica. El TGF- β_1 además de actuar como agente protector de las neuronas

de dopamina *in vitro* (Unsicker, K., *et al.*, 1996. *Ciba Found Symp.* 196, 70-80.) potenciaría las acciones del GDNF *in vitro* e *in vivo* (Kriegstein, K., *et al.*, 1998. *J. Neurosci.* 18, 9822-9834.; Schober, A., *et al.*, 2007. *Neurobiol. Dis.* 25, 378-391.), cooperando ambos factores funcionalmente, de forma que el GDNF favorece la regeneración trófica del tejido dañado y el cese de la degeneración, y el TGF- β_1 disminuye el desarrollo de la hipersensibilidad dopaminérgica que aparece en el caudado/putamen de los pacientes que han desarrollado la enfermedad.

Hasta la fecha no ha sido ensayada una composición de la combinación de ambos factores tróficos en modelos animales, y por tanto, no se ha podido establecer el rango GDNF:TGF- β_1 más adecuado. Para estudiar el efecto sinérgico de ambos factores hasta ahora sólo se ha realizado *in vitro*, divulgándose un rango de GDNF:TGF- β_1 5:1, de forma que se utilizaba una concentración de GDNF de 10 ng/ml y una concentración de TGF- β_1 de 2 ng/ml (H. Peterziel, *et al.*, 2002, *The Journal of Cell Biology*, 159 (1), 157-167). Por otra parte, el ensayo de este tipo de composición presenta una gran dificultad a la hora de atravesar la barrera hematoencefálica.

Por tanto, persiste el problema del tratamiento de algunas patologías con carácter neuronal, principalmente el tratamiento de la enfermedad de Parkinson.

Explicación de la invención

La presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y el factor transformante beta 1 (TGF- β_1) en un rango de GDNF:TGF- β_1 de entre 2:1 a 4:1. Asimismo la presente invención se refiere al uso de dicha composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad neurológica. Preferiblemente la enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa. Dicha enfermedad puede cursar con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios, como por ejemplo, pero sin limitarse, la enfermedad de Parkinson, trastorno de Gilles de la Tourette, síndrome de Lesch-Nyhan o un desorden neurológico causado por abstinencia a drogas o por tratamiento con al menos un neuroléptico. Preferiblemente la enfermedad es Parkinson. Además, dicha composición se administra vía intracerebroputaminal presentándose de forma adaptada a esta vía de administración para su aplicación sobre el caudado dañado y/o el putamen dañado.

Es de destacar que en la presente invención se determina el rango GDNF:TGF- β_1 más adecuado para favorecer la acción farmacológica de ambos compuestos en su administración *in vivo*. Con el fin de aumentar la capacidad terapéutica del factor GDNF, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de enfermedades o desórdenes neurológicos que cursen con neurodegeneración y, más específicamente con discinesias u otros movimientos anormales e involuntarios mediante el uso de una composición farmacéutica que comprende los factores combinados GDNF y TGF- β_1 en un rango de GDNF:TGF- β_1 diferente del que se divulga en el estado de la técnica y por tanto, que un experto en la materia no consideraría obvio.

Por tanto, la presente invención resuelve el problema técnico que plantea el tratamiento eficaz de algunas patologías con carácter neuronal, principalmente el tratamiento de la enfermedad de Parkinson, en combinación con la administración de dicha compo-

sición farmacéutica de forma precisa en el caudado putamen dañado vía intracerebroputaminal, preferiblemente mediante bombas de infusión, conectadas a catéteres intracerebrales.

Así pues, un aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende los siguientes compuestos, el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF) y el factor transformante beta1 (TGF- β_1), en un rango de concentraciones de GDNF:TGF- β_1 de entre 2:1 a 4:1. Es decir, para una misma concentración de TGF- β_1 se puede emplear un rango de concentraciones de entre 2 y 4 veces superior del factor GDNF.

El empleo de factores neurotróficos, como ya se ha comentado, es una alternativa a la levodopa. Estos factores son moléculas requeridas por las neuronas para su desarrollo, migración, y mantenimiento trófico. Se expresan en diferentes regiones del sistema nervioso durante el desarrollo, y son específicos para distintas poblaciones neuronales, lo que les hace buenos candidatos para enfermedades neurodegenerativas.

El GDNF o factor neurotrófico derivado de la glía se aisló de líneas celulares de glía de rata y es muy específico de neuronas dopaminérgicas. Tras el procesamiento intracelular, el GDNF se segrega en forma glicosilada como proteína de 134 aminoácidos, en forma de dímero de unos 32 Kda.

Se acepta que es el factor dopaminotrófico más potente, pues como ya se ha comentado protege a las neuronas dopaminérgicas de la neurodegeneración en modelos animales de EP, cuando se inyecta, por ejemplo, por vía intraventricular, o por medio de células trasplantadas o virus. Entre las propiedades que hacen al GDNF uno de los más potentes factores neurotróficos, destacan:

- inducción de arborización o "sprouting" de las fibras nerviosas de las neuronas de dopamina.
- reducir la degeneración de las fibras dopaminérgicas, de forma que se inhibe el proceso regulado por el sistema ubiquitina-proteosoma aumentando así la degeneración neuronal.
- proteger al proteosoma suprimiendo el estrés del retículo y la activación de caspasas-3.
- incrementar la actividad y expresión de la enzima tirosina-hidroxilasa o TH, enzima encargada de la síntesis de dopamina.

Por otro lado, el TGF- β_1 o factor transformante beta-1 pertenece a la misma familia que el GDNF (factores TGF- β), y también ejerce efectos sobre las neuronas dopaminérgicas. TGF- β_1 se identificó en plaquetas, y tiene una masa molecular de 25 KDa. Se sintetiza como un precursor de 390 aminoácidos que se procesa en un péptido maduro de 112 aminoácidos.

El TGF- β_1 , también protege las neuronas de dopamina *in vitro*, y potencia las acciones del GDNF *in vitro* e *in vivo*. Se sabe que la acción combinada de ambos factores es necesaria para una acción trófica mayor de GDNF, lo que hace la combinación de ambos muy atractiva desde el punto de vista terapéutico.

TGF- β_1 y GDNF cooperan en la señalización intracelular, aumentando la expresión del receptor GFR α_1 en la membrana celular, hecho de gran importancia para aumentar el efecto de GDNF.

Además, datos experimentales con modelos ani-

males de parkinsonismo indican que el rango 2:1 a 4:1 de GDNF:TGF- β_1 es apropiado, y ratios de concentraciones por encima o debajo del mismo no son igualmente efectivas. En ratas parkinsonianas se han empleado dosis de GDNF de 6, 8 y 10 ng/día durante 8 días, combinadas con TGF- β_1 a dosis de 1, 2 y 3 ng/día durante 8 días en bombas osmóticas, en distintas combinaciones o ratios. Cuando se combinaron entre sí todas las posibles dosis se obtuvo que las dosis más efectivas eran las que pertenecían al rango de 2:1 a 4:1 de GDNF:TGF- β_1 (datos mostrados en los ejemplos).

Una realización preferida de la presente invención se refiere a la composición farmacéutica que adicionalmente comprende, al menos, un excipiente farmacológicamente aceptable además de GDNF y TGF- β_1 en un rango de concentraciones de GDNF:TGF- β_1 de entre 2:1 a 4:1.

El término "excipiente" hace referencia a una sustancia que ayuda a la absorción de cualquiera de las secuencias de la presente invención, estabiliza dicha secuencia o ayuda a la preparación de dicha composición farmacéutica en el sentido de darle consistencia o aportar sabores que lo hagan más agradable. Así pues, los excipientes podrían tener la función de mantener los ingredientes unidos como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, función de endulzar, función de colorante, función de protección del medicamento como por ejemplo para aislarlo del aire y/o la humedad, función de relleno de una pastilla, cápsula o cualquier otra forma de presentación como por ejemplo el fosfato de calcio dibásico, función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción en el intestino, sin excluir otro tipo de excipientes no mencionados en este párrafo.

Otra realización preferida se refiere a la composición farmacéutica, según se describe en párrafos anteriores, que adicionalmente comprende, al menos, un vehículo farmacológicamente aceptable. Además, el vehículo debe ser farmacológicamente aceptable. Un "vehículo farmacológicamente aceptable" se refiere a aquellas sustancias, o combinación de sustancias, conocidas en el sector farmacéutico, utilizadas en la elaboración de formas farmacéuticas de administración e incluye, pero sin limitarse, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos. El vehículo puede ser una sustancia inerte o de acción análoga a cualquiera de los compuestos de la presente invención. La función del vehículo es facilitar la incorporación de los compuestos de la invención GDNF y TGF- β_1 así como también de otros compuestos, permitir una mejor dosificación y administración o dar consistencia y forma a la composición farmacéutica. Cuando la forma de presentación es líquida, el vehículo es el diluyente.

El término "farmacológicamente aceptable" se refiere a que el compuesto al que hace referencia esté permitido y evaluado de modo que no cause daño a los organismos a los que se administra.

El término "farmacológicamente aceptable" se refiere a que el compuesto al que hace referencia permita la actividad del rango de concentraciones de GDNF:TGF- β_1 de entre 2:1 y 4:1.

De aquí en adelante, para hacer referencia a cualquier composición descrita en párrafos anteriores se puede emplear el término "composición de la presente invención" o "composición de la invención".

En la presente invención se demuestra que ambos factores neurotróficos cooperan funcionalmente. Así,

la acción de GDNF está mediada por un efecto trófico sobre las neuronas de dopamina nigroestriales, mientras que el TGF- β_1 actúa aumentando la actividad de GDNF y disminuyendo la hipersensibilidad dopaminérgica, que es un hecho que aparece en la EP avanzada, y que se ha asociado a la aparición de discinesias tras levodopa.

A lo largo de la presente invención, se demuestra que la composición de la invención origina dos hechos novedosos e inesperados:

- el efecto trófico de GDNF es mayor, debido a un bloqueo de la desensibilización de su receptor GFR α_1 en el que participa el TGF- β_1 y,
- no se desarrolla hipersensibilidad dopaminérgica.

Ello puede tener repercusiones muy favorables para el tratamiento de enfermedades o desórdenes neuronales, preferentemente neurodegenerativos, que cursen con discinesias u otros movimientos anormales e involuntarios, como se puede ver en los ejemplos, donde el tratamiento de estos factores combinados en ratas parkinsonianas producía una reducción de la sintomatología motora en las ratas. Además, con el tratamiento prolongado tampoco se observaba el desarrollo de discinesias invalidantes y secundarias a la hipersensibilidad dopaminérgica como ocurre con el uso de levodopa.

Por ello, otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de la composición de la invención para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad neurológica. El término "enfermedad neurológica" hace referencia a aquellas enfermedades en las que se produce una lesión o una disfunción del sistema nervioso, ya sea central o periférico. Son trastornos del cerebro, la médula espinal y los nervios de todo el cuerpo. En conjunto, esos órganos controlan todas las funciones del cuerpo y cuando algo funciona mal en alguna parte del sistema nervioso, es posible que tenga dificultad para moverse, hablar, tragar, respirar o aprender. También pueden aparecer problemas relacionados con la memoria, los sentidos o el estado de ánimo.

Una realización preferida de la presente invención se refiere al uso de la composición farmacéutica de la invención para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad neurológica, donde dicha enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa. El término "enfermedad neurodegenerativa" hace referencia a aquellas enfermedades causadas por un aumento en los procesos de muerte celular, reduciendo el número de neuronas, genera cambios en la conducta causando el empeoramiento de muchas de las actividades corporales, incluyendo el equilibrio, el movimiento, el habla, la respiración y la función cardíaca. Muchas de estas enfermedades son genéticas, lo que significa que son hereditarias o que existe una mutación genética. Algunos cuadros clínicos, como lo es el alcoholismo, un tumor o un derrame, pueden causar otros tipos. Existen todavía otros tipos que pueden ser causados por toxinas, sustancias químicas o virus.

Según una realización más preferida, la enfermedad neurológica cursa con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios. Según otra realización más preferida de la presente invención, la enfermedad neurológica es Parkinson, trastorno de Gi-

lías de la Tourette, síndrome de Lesch-Nyhan o un desorden neurológico causado por abstinencia a drogas o por tratamiento con al menos un neuroléptico.

Todas estas enfermedades o desórdenes neurológicos han sido seleccionados debido a que en todas ellas se desarrollan discinesias e hipersensibilidad dopaminérgica

En una realización aún más preferida, la enfermedad neurológica es Parkinson.

Tal como se ha comentado anteriormente, el GDNF es una macromolécula que no atraviesa la barrera hematoencefálica, por lo que con el fin de facilitar a estas macromoléculas el transporte a través de la barrera hematoencefálica, una realización más preferida del uso de la composición farmacéutica de la presente invención se refiere al uso donde el medicamento de la presente invención se presenta en una forma adaptada a la administración intracerebroputaminal. El término "forma adaptada" hace referencia al modo de adecuar el medicamento de la presente invención para que pueda ser administrado vía intracerebroputaminal.

La administración por vía intracerebroputaminal de la composición de la invención, puede efectuarse a través de varios métodos como, por ejemplo, pero sin limitarse a microcápsulas de liberación lenta implantadas en el caudado/putamen, virus infundidos que liberen ambos factores o infusiones intraputaminales continuas con bombas de infusión conectadas a catéteres intracerebrales. La infusión continua permite el transporte de la composición de la invención de forma controlada y directamente al caudado dañado y/o putamen dañado, consiguiendo así un mayor efecto trófico en esta zona, junto a una reducción del desarrollo de hipersensibilidad dopaminérgica en el caudado/putamen. El primer efecto estaría mediado por GDNF y el segundo por TGF- β_1 .

Otra realización preferida de la invención se refiere a la composición farmacéutica de la invención, donde el medicamento tiene una cantidad de GDNF capaz de alcanzar una concentración diaria en tejido cerebral de entre 5 y 50 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Es conocido que el rango de concentraciones de GDNF de entre 5 y 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ es el más adecuado en humanos (Nutt JG. *et al.* 2003 *Neurology*. Jan 14; 60(1):69-73). Además también pueden emplearse los rangos de 8 a 50 $\mu\text{g}/\text{día}$, 15 a 50 $\mu\text{g}/\text{día}$, 17 a 45 $\mu\text{g}/\text{día}$, 21 a 40 $\mu\text{g}/\text{día}$, 25 a 37 $\mu\text{g}/\text{día}$, 27 a 31 $\mu\text{g}/\text{día}$ o el rango de GDNF que va desde 8 a 12 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Por otro lado, debido a que tal y como se demuestra en la invención, la dosis de TGF- β_1 debe ser de 2 a 4 veces inferior a la de GDNF de forma que ambas concentraciones se mantengan en el rango de 2:1 a 4:1 de GDNF:TGF- β_1 , el medicamento tiene una cantidad de TGF- β_1 capaz de alcanzar una concentración diaria en tejido cerebral de entre 1 a 25 $\mu\text{g}/\text{día}$, además también pueden emplearse los rangos que van de 1 a 20 $\mu\text{g}/\text{día}$, de 1 a 15 $\mu\text{g}/\text{día}$, 1 a 10 $\mu\text{g}/\text{día}$ o el rango de TGF- β_1 que va desde 1 a 3 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Otro aspecto de la invención se refiere al kit que comprende la composición de la invención.

En una realización preferida del aspecto anterior, además el kit comprende bombas de infusión y catéteres intracerebrales.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus vahantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros

objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las siguientes figuras y ejemplos se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

Descripción de las figuras

Fig. 1. Rotaciones inducidas por anfetamina/apomorfina.

Las Figuras 1A y B, muestran el número de rotaciones por hora que realiza el animal cuando se le inyecta anfetamina y no reciben ningún tratamiento, y posteriormente, al segundo mes, cuando se les implantan las minibombas con vehículo control, GDNF solo, GDNF + TGF- β_1 combinados, o con TGF- β_1 solo. La figura 1A incluye los datos con la ratio 4:1 de GDNF: TGF- β_1 , con dosis de 8 ng/día de GDNF (x 8 días) y de 2 ng/día de TGF- β_1 (x 8 días). La figura 1B incluye los datos con la ratio 2:1 de GDNF: TGF- β_1 con dosis de 6 ng/día de GDNF (x 8 días) y de 3 ng/día de TGF- β_1 (x 8 días) (Medias \pm EEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 2 meses después de inducir parkinsonismo en la rata, test de Newman-Keuls).

Las Figuras 1C y D, muestran el número de rotaciones por hora que realiza el animal cuando se le inyecta apomorfina y no reciben ningún tratamiento, y posteriormente, al segundo mes, cuando se les implantan las minibombas con vehículo control, GDNF solo, GDNF + TGF- β_1 combinados, o con TGF- β_1 solo. La figura 1C incluye los datos con la ratio 4:1 de GDNF: TGF- β_1 , con dosis de 8 ng/día de GDNF (x 8 días) y de 2 ng/día de TGF- β_1 (x 8 días). La figura 1D incluye los datos con la ratio 2:1 de GDNF: TGF- β_1 con dosis de 6 ng/día de GDNF (x 8 días) y de 3 ng/día de TGF- β_1 (x 8 días) (Medias \pm EEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. 2 meses después de inducir parkinsonismo en la rata, test de Newman-Keuls).

Fig. 2. Inmunotinción de la señal estriatal de tirosina-hidroxilasa (TH).

La Figura 2 muestra inmunotinción de la señal estriatal de tirosina-hidroxilasa (TH) después de un mes tras el cese de la infusión constante (mediante bomba osmótica implantada) de vehículo salino, GDNF+TGF- β_1 o GDNF sólo, durante 8 días en ratas con estriado lesionado.

En la Figura 2A se observa el estriado lesionado (a la derecha de la imagen) tras infusión de salino.

En la Figura 2B se observa el estriado lesionado (a la derecha de la imagen) tras infusión de GDNF + TGF- β_1 a una ratio de 4:1 (dosis de 8 ng/día de GDNF y de 2 ng/día de TGF- β_1).

La Figura 2C es una ampliación de la Figura 2B, la zona más teñida es la zona de infusión.

En la figura 2D se observa el estriado lesionado (a la derecha de la imagen) tras infusión de GDNF+TGF- β_1 a una ratio de 2:1 (dosis de 6 ng/día de GDNF y de 3 ng/día de TGF- β_1).

En la Figura 2E se observa el estriado lesionado (a la derecha de la imagen), tras infusión de GDNF sólo en esa zona (8 ng/día por 8 días).

Barra: 1 mm.

Fig. 3. Inmunoblotting del receptor GRF α 1 (receptor de GDNF).

En la Figura 3 se muestran los resultados de un inmunoblotting del receptor GRF α 1 (receptor de GDNF) en los estriados contralateral y lesionado de ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA, después de un mes tras el cese de la infusión constante

(mediante bomba osmótica implantada) de vehículo salino, GDNF+TGF- β_1 (ratio 4:1) o GDNF sólo, durante 8 días.

Se marca con un asterisco el estriado lesionado con infusión de GDNF y con almohadilla el estriado lesionado con infusión combinada de GDNF+TGF- β_1 .

Ejemplos

La invención se basa en el tratamiento con infusiones intraputaminales de dosis farmacológicamente efectivas de GDNF y TGF- β_1 combinados a ratas parkinsonianas. Las infusiones se realizaron con bombas de infusión conectadas a catéteres intracerebrales, con el fin de mantener una inyección con flujo constante de estos factores tróficos. En humanos, la dosis recomendada de GDNF es 5-50 $\mu\text{g}/\text{día}$ y la de TGF- β_1 es de 1-10 $\mu\text{g}/\text{día}$, manteniendo siempre una mayor concentración de GDNF en el rango de ratios de 2:1 a 4:1. Datos experimentales con modelos animales de parkinsonismo indicaron que este rango de ratios es apropiado, y ratios de concentraciones por encima o debajo del mismo no son igualmente efectivas. Esta ratio de combinaciones es también novedosa, pues hasta la fecha sólo combinaciones 5:1 en cultivo celular se habían ensayado.

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores que describen cómo el tratamiento con infusiones intraputaminales de dosis farmacológicamente efectivas de GDNF y TGF- β_1 combinados y su correspondiente vehículo en solución dio lugar a una mejor recuperación de la sintomatología motora de ratas a las que se les había inducido la enfermedad de Parkinson que si las ratas se trataban mediante los factores GDNF o TGF- β_1 por separado, demostrando los efectos aumentados por la cooperación entre ambos factores. Por otro lado, también se comprobó que el efecto trófico mediado por GDNF se ve incrementado por TGF- β_1 porque éste bloquea la desensibilización o regulación a la baja de los receptores GFR α 1 de GDNF e induce el freno de la degeneración, incremento de la regeneración y aumento de los niveles de dopamina (aumentó la expresión de la enzima tirosina-hidroxilasa de dopamina). El TGF- β_1 indujo *per se* una disminución del desarrollo de la hipersensibilidad de receptores de dopamina, que surgió como consecuencia del proceso degenerativo de la enfermedad y originó discinesias a la levodopa.

Ejemplo 1

Parkinsonismo inducido por 6-hidroxidopamina

Se crearon modelos animales de ratas parkinsonianas inyectando 6-hidroxidopamina (6-OHDA), la neurotoxina más ampliamente utilizada en el desarrollo de modelos experimentales de EP en roedores. Cuando es administrada por vía sistémica destruye las neuronas adrenérgicas de los ganglios simpáticos pero carece de acción tóxica a nivel del sistema nervioso central. Sin embargo, la inyección intracerebral de 6-OHDA produce una destrucción selectiva de neuronas catecolaminérgicas. Esta especificidad es debida a su alta afinidad por el sistema de transporte de catecolaminas.

En los últimos años, la inyección estriatal de 6-OHDA está siendo utilizada como modelo de degeneración neuronal debido a que produce atrofia y degeneración lenta y progresiva de las neuronas de la sustancia negra. Este modelo resulta muy interesante por varias razones. En primer lugar representa un modelo

de parkinsonismo en un estadio inicial de la enfermedad ya que la pérdida neuronal que se obtiene oscila entre un 60-70%. Por otro lado permite, de acuerdo a la dosis de 6-OHDA inyectada en el estriado, obtener una lesión parcial nigroestriada y por tanto puede ser el modelo ideal a utilizar para el estudio del efecto neuroprotector de determinadas sustancias.

Los animales con lesión unilateral de la vía nigroestriada, presentaron una rotación ipsilateral a la lesión cuando se les administraron sustancias que aumentan la liberación de dopamina como anfetamina (Figura 1A, B), y mostraron una rotación contralateral al lado de la lesión cuando recibieron agonistas dopaminérgicos como apomorfina (Figura 1C, D). La rotación contralateral inducida por apomorfina u otros agonistas dopaminérgicos, fue debida al incremento del número de receptores dopaminérgicos que aparecieron en el estriado homolateral a la lesión como consecuencia de la denervación. Por el contrario la anfetamina, al incrementar la liberación de dopamina en las terminales presinápticas incrementó la concentración de dopamina únicamente en estriado contralateral a la lesión, produciéndose un desequilibrio funcional a favor del estriado contralateral.

La lesión unilateral de la sustancia negra indujo cambios en el sistema nigroestriado que intentaron compensar el déficit de dopamina inducido por la pérdida de neuronas dopaminérgicas. Así, se ha descrito una inducción y activación de tirosina hidroxilasa (enzima limitante de la síntesis de catecolaminas) en las neuronas dopaminérgicas todavía funcionantes (Figura 2), un aumento de la cantidad de dopamina liberada en el estriado por las terminales dopaminérgicas existentes y un incremento en el número de receptores dopaminérgicos estriatales postsinápticos (Figura 3). Este incremento apareció únicamente cuando la pérdida de neuronas dopaminérgicas fue superior al 90% y tuvo lugar después de 4 semanas de haberse producido la denervación dopaminérgica.

1.1 *Medida de las rotaciones inducidas a ratas parkinsonianas*

1.1.1 *Rotaciones inducidas por anfetamina*

Todas las ratas parkinsonianas sin tratamiento giraron durante los dos meses tras la lesión con 6-OHDA. Tras implantar las minibombas con GDNF solo, GDNF + TGF- β_1 combinados, TGF- β_1 solo o vehículo salino, se redujo el giro progresivamente, en todos los casos excepto en las control o con TGF- β_1 solo, indicativo de recuperación funcional. La combinación GDNF: TGF- β_1 (4:1 o 2:1) tuvo más efecto que el GDNF sólo (Figuras 1A, B).

La anfetamina se inyectó en 5 momentos determinados: una semana después de la inducción del parkinsonismo, 1 mes después de la inducción del parkinsonismo, 2 meses después de la inducción del parkinsonismo, 9 días después de la implantación la bomba y 1 mes después de la implantación de la bomba.

(Medias \pm EEM, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs 2 meses después de inducir parkinsonismo en la rata).

1.1.2 *Rotaciones inducidas por apomorfina*

Las rotaciones aumentaron en todas las ratas parkinsonianas sin tratamiento durante dos meses tras la lesión con 6-OHDA, indicativo de desarrollo de hipersensibilidad dopaminérgica. La implantación de bombas con GDNF, TGF- β_1 o ambos factores combinados redujo la hipersensibilidad dopaminérgica, siendo el efecto mayor cuando se combinaron ambos facto-

res o cuando se añadió TGF- β_1 sólo. Todos los efectos mencionados se mantuvieron durante un mes tras el cese de las bombas, indicando que la recuperación funcional y la hipersensibilidad disminuida eran efectos mantenidos (Figuras 1C, D).

La apomorfina se inyectó en 5 momentos determinados: una semana después de la inducción del parkinsonismo, 1 mes después de la inducción del parkinsonismo, 2 meses después de la inducción del parkinsonismo, 9 días después de la implantación de la bomba y 1 mes después de la implantación de la bomba.

(Medias \pm EEM, ** $p < 0.01$ vs 2 meses tras la inducción del parkinsonismo).

1.2 Inmunotinción de la señal estriatal de tirosina-hidroxilasa (TH)

Se puede observar en la Figura 2 que la inmunotinción de la señal estriatal de tirosina-hidroxilasa (TH), enzima de síntesis de la dopamina, después de un mes tras el cese de la infusión constante (mediante bomba osmótica implantada) de vehículo salino, GDNF+TGF- β_1 o GDNF sólo durante 8 días en ratas con estriado lesionado, mostró que:

- el estriado lesionado presentaba ausencia de señal oscura de inmunotinción de TH, indicativa de degeneración dopaminérgica (compárese con el estriado contralateral no lesionado) cuando se infundió vehículo salino (Figura 2A),
- se observó una clara recuperación de la señal TH en el estriado cuando se infundió GDNF + TGF- β_1 durante 8 días a ratios 4:1 (Figura 2B y C) o 2:1 (Figura 2D), con una mayor señal de TH en la zona de infusión (Figura 2C, imagen ampliada de la zona de infusión). Dicha señal fue indicativa de que se había regenerado el tejido dopaminérgico tras la infusión de ambos factores neurotróficos (compárese la señal con el estriado contralateral, normal, no lesionado),
- la infusión de GDNF indujo un aumento de la

señal de TH en el estriado inyectado, indicativo de su efecto trófico, pero dicha señal fue menor en densidad y tamaño al de la combinación GDNF+ TGF- β_1 a ambas ratios (4:1 o 2:1) (Figura 2E).

Barra: 1 mm.

1.3 Immunoblotting del receptor GRF α 1 (receptor de GDNF) en los estriados contralateral y lesionado

El immunoblotting del receptor GRF α 1 (receptor de GDNF) en los estriados contralateral y lesionado de ratas lesionadas unilateralmente con 6-OHDA, después de un mes tras infusión constante (mediante bomba osmótica implantada) de vehículo control, GDNF, TGF- β_1 o ambos combinados en el estriado lesionado mostró cómo la señal del receptor (bandas a 55 KDa) disminuyó tras la infusión de GDNF indicativo de "regulación a la baja" por desensibilización del receptor (asterisco), pero ello no ocurrió tras combinar GDNF con TGF- β_1 (almohadilla), lo que explica a nivel molecular por qué se facilita *in vivo* la acción trófica del GDNF a través de su receptor.

Los datos experimentales permiten afirmar por tanto que ambos factores neurotróficos cooperan funcionalmente: el GDNF favorece la regeneración trófica del tejido dañado y el cese de la degeneración, y el TGF- β_1 disminuye el desarrollo de la hipersensibilidad dopaminérgica que aparece en el caudado/putamen en la EP. Este último efecto es novedoso e inesperado, y con importantes repercusiones funcionales pues la hipersensibilidad dopaminérgica anómala se considera causa de discinesias y fracasos en la acción de levodopa en los enfermos de Parkinson.

Así, el tratamiento combinado dio lugar a una mejor recuperación de la sintomatología motora en la EP y al no desarrollo de discinesias invalidantes y secundarias a la hipersensibilidad dopaminérgica, de forma que puede ser aplicado a cualquier enfermedad o desorden neuronal, neurodegenerativo que curse con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), y el factor transformante beta1 (TGF-β₁) en un rango de GDNF:TGF-β₁ de entre 2:1 a 4:1.

2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, que adicionalmente comprende, al menos, un excipiente farmacológicamente aceptable.

3. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, que adicionalmente comprende, al menos, un vehículo farmacológicamente aceptable.

4. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de al menos una enfermedad neurológica.

5. Uso de la composición según la reivindicación 4, donde la enfermedad neurológica es una enfermedad neurodegenerativa.

6. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 4 ó 5, donde la enfermedad neurológica es una enfermedad que cursa con discinesias u otros movimientos anormales o involuntarios.

7. Uso de la composición según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, donde la enfermedad neurológica es Parkinson, trastorno de Gilés de la Tourette, síndrome de Lesch-Nyhan o un desorden neurológico causado por abstinencia a drogas o por tratamiento con al menos un neuroléptico.

8. Uso según la reivindicación 7, donde la enfermedad neurológica es Parkinson.

9. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, donde dicho medicamento se presenta en una forma adaptada a la administración intracerebroputaminal.

10. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 9, donde el medicamento tiene una cantidad de GDNF capaz de alcanzar una concentración diaria en tejido cerebral de entre 5 y 50 μg/día.

11. Kit que comprende la composición según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

12. Kit según la reivindicación 11 que además comprende bombas de infusión y catéteres intracerebrales.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

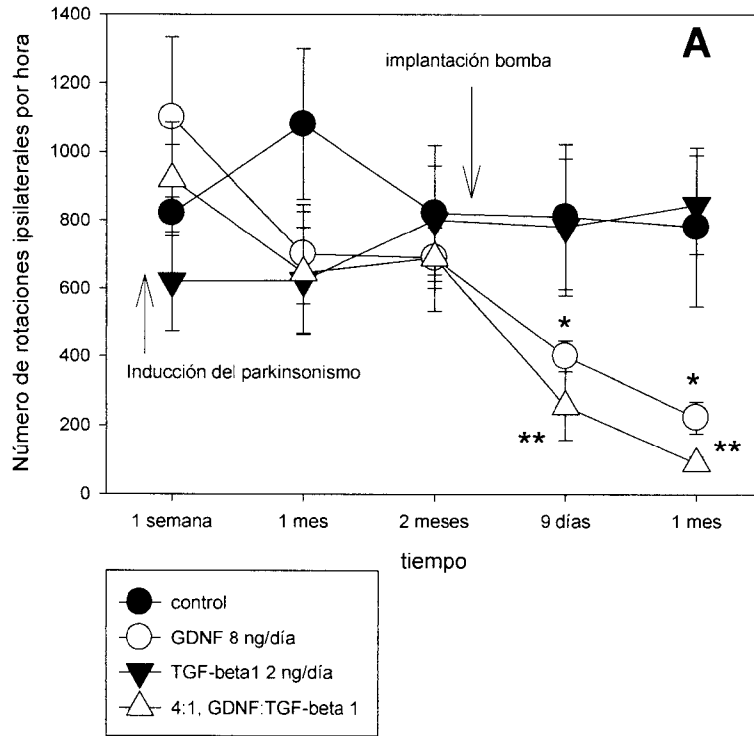
50

55

60

65

FIG. 1
Test de anfetamina



Test de anfetamina

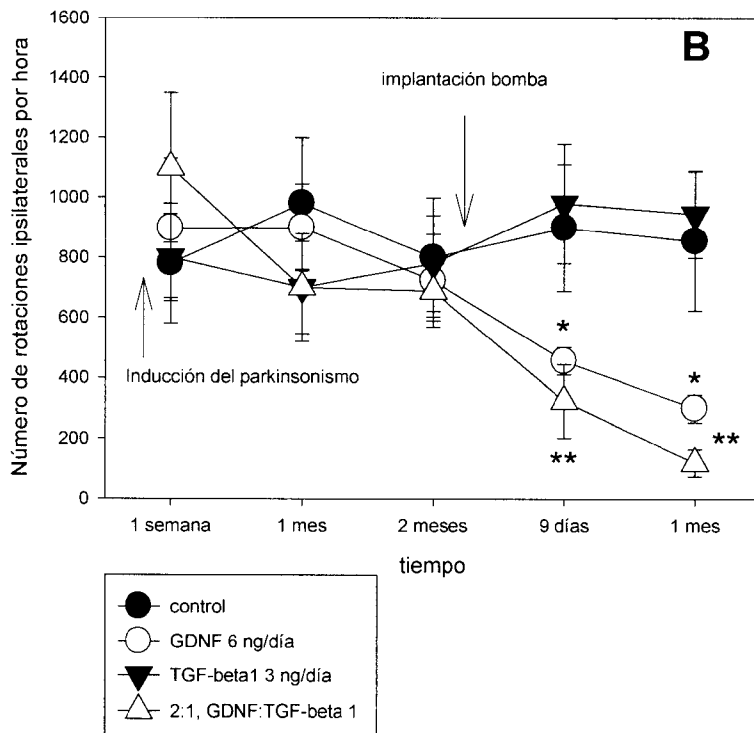
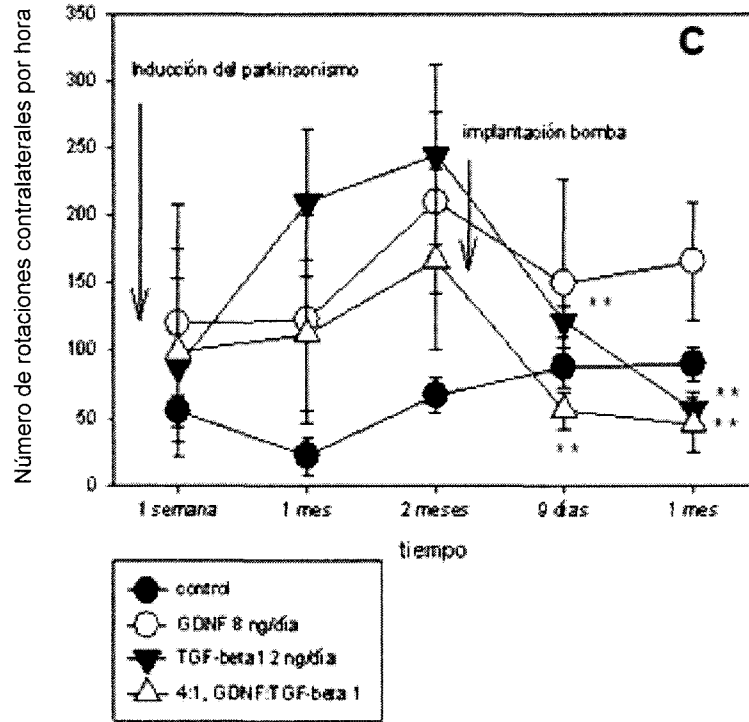


FIG. 1

Test de apomorfina



Test de apomorfina

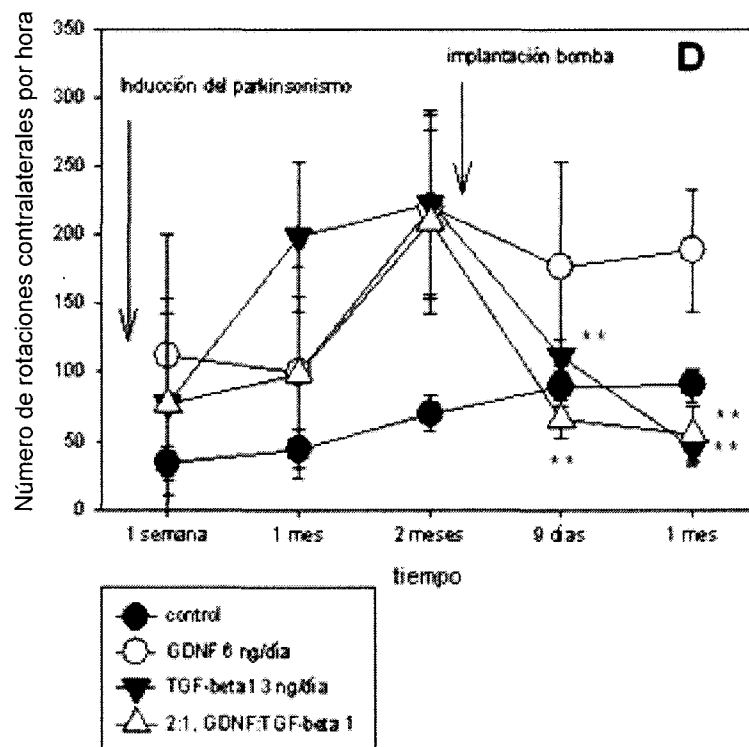


FIG. 2

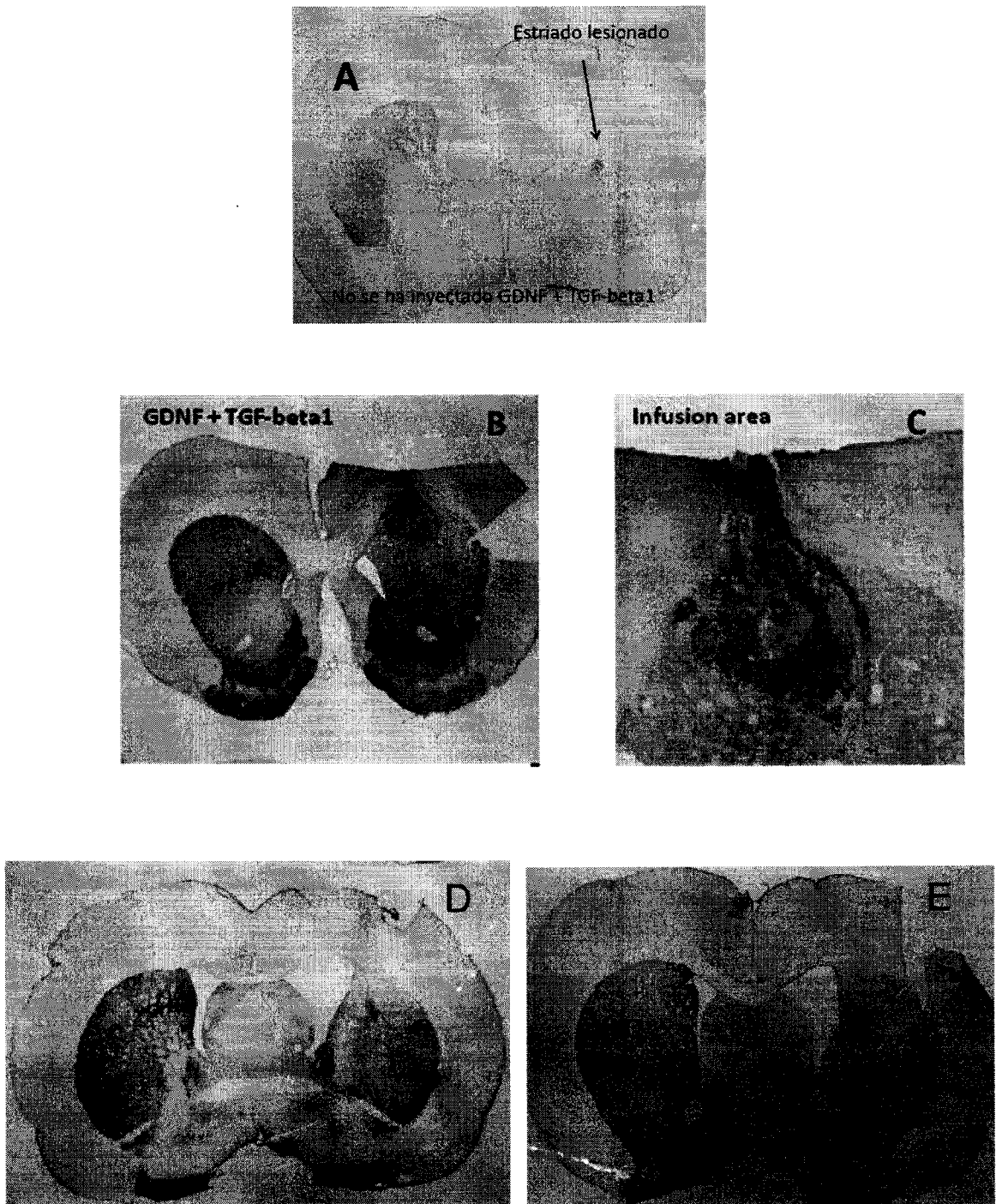
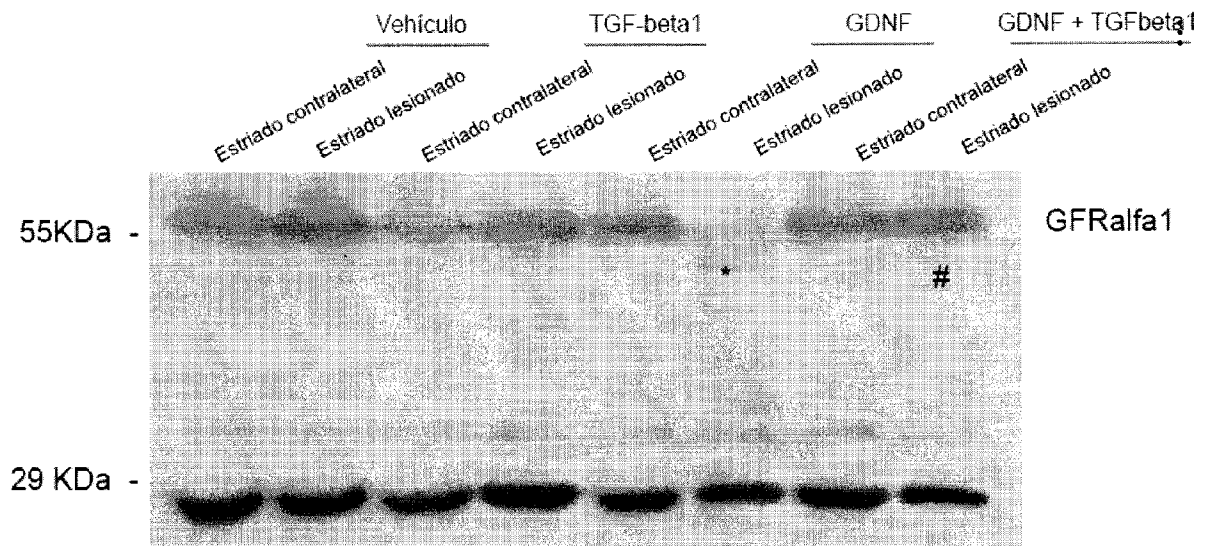


FIG. 3





② N.º solicitud: 201000060

② Fecha de presentación de la solicitud: 19.01.2010

③ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤ Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 9915191 A2 (BIOPHARM GMBH) 01.04.1999, resumen, página 1, líneas 1-2; página 2, línea 19 – página 3, línea 4; página 3, líneas 11-16; página 4, líneas 20-23; página 10, línea 5 - página 11, línea 9; figuras 6-11; reivindicaciones 1-2,5,16-17.	1-8,11
Y		9-10,12
Y	WO 2004075720 A2 (NORTH BRISTOL N.H.S. TRUST AND UNIVERSITY OF KENTUCKY) 10.09.2004, página 21, líneas 15-16; página 23, líneas 3-5; página 25, línea 25 – página 26, línea 11; página 47, líneas 17-31.	9-10,12
X	KRIEGLSTEIN K., et al. "Glial cell line-derived neurotrophic factor requires transforming growth factor- β for exerting its full neurotrophic potential on peripheral and CNS neurons." The Journal of Neuroscience (1998) Vol. 18, páginas 9822-9834. Página 9822,9828-9832 y figuras 1-2 y 4.	1-8,11
A	FERNÁNDEZ-ESPEJO E. et al. "Trasplante de células naturales 'dopaminotróficas': nuevo concepto terapéutico antiparkinsoniano." Revista de Neurología (2003) Vol. 36, páginas 540-544. Todo el documento.	1-12
A	GALÁN-RODRIGUEZ B. et al. "Grafts of extra-adrenal chromaffin cells as aggregates show better survival rate and regenerative effects on parkinsonian rats than dispersed cell graft." Neurobiology of Disease (2008) Vol. 29, páginas 529-542. Página 529.	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
28.04.2011

Examinador
M. García Bueno

Página
1/5

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

A61K38/19 (2006.01)

A61K38/18 (2006.01)

C07K14/495 (2006.01)

C07K14/52 (2006.01)

A61P25/16 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, C07K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, TXTF, MEDLINE, BIOSIS, NPL, XPESP, EMBASE

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 28.04.2011

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones 9-12	SI
	Reivindicaciones 1-8	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)	Reivindicaciones	SI
	Reivindicaciones 1-12	NO

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Numero Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 9915191 A2 (BIOPHARM GMBH)	01.04.1999
D02	WO 2004/075720 A2	10.09.2004
D03	KRIEGLSTEIN K., et al. "Glial cell line-derived neurotrophic factor requires transforming growth factor- β for exerting its full neurotrophic potential on peripheral and CNS neurons." The Journal of Neuroscience (1998) Vol. 18, páginas 9822-9834.	1998
D04	FERNÁNDEZ-ESPEJO E. et al. "Trasplante de células naturales 'dopaminotróficas': nuevo concepto terapéutico antiparkinsoniano." Revista de Neurología (2003) Vol. 36, páginas 540-544.	2003
D05	GALÁN-RODRIGUEZ B. et al. "Grafts of extra-adrenal chromaffin cells as aggregates show better survival rate and regenerative effects on parkinsonian rats than dispersed cell graft." Neurobiology of Disease (2008) Vol. 29, páginas 529-542.	2008

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud de invención consiste en una composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), y el factor transformante beta1 (TGF- β 1) en un rango de GDNF: TGF- β 1;1 de entre 2:1 a 4:1 (reivindicaciones 1-3), su uso para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad neurológica, entre ellas, Parkinson (reivindicaciones 4-10), y un kit que comprende la composición farmacéutica y unas bombas de infusión y catéteres intracerebrales (reivindicaciones 11-12).

El documento D01 consiste en una composición farmacéutica con actividad neurotrófica que comprende al menos dos citoquinas, donde al menos una de las citoquinas es BMP, GDF, TGF-beta o GDNF.

El documento D02 consiste en un método para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson mediante infusión intraputamina de GDNF.

El documento D03 consiste en un estudio de la sinergia entre GDNF y TGF- β 1; y su co-administración en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

El documento D04 divulga un trasplante de células naturales dopaminotróficas como terapia en la enfermedad del Parkinson. Las células de trasplante expresan GDNF y TGF β 1, y se observa un aumento de los niveles de estos factores neurotróficos en el tejido estriatal (ver todo el documento).

El documento D05 divulga una estrategia de introducción de moléculas potencialmente neuroprotector que estimulan la regeneración en el sistema nigrostratal dañado. Entre esas moléculas se encuentran GDNF y TGF- β 1 (ver página 529).

1.-NOVEDAD (Art. 6.1 LP).**1.1-Reivindicaciones 1-8.**

El documento D01 se considera el más representativo del estado de la técnica y divulga una composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), y el factor transformante beta1 (TGF- β 1) en un rango de GDNF: TGF- β 1 de entre 2:1 a 4:1 (ver resumen, página 2, líneas 19-25, página 3, líneas 1-4, página 4, líneas 20-23, página 10, línea 5- página 11, línea 9 y reivindicaciones 1-2 y 5).

En la figura 6B del documento D01 se muestra la dosis curva-respuesta para la acción combinada de GDNF y TGF-beta1 en los ganglios ciliares del pollo. Los cuadrados representan la supervivencia neuronal lograda en presencia de una cantidad constante de GDNF (2ng/ml) y una cantidad variable de TGF-beta1. En la gráfica se observa que las supervivencias mayores ocurren en presencia de una dosis de 2ng/ml de GDNF y 1ng/ml de TGF-beta1 y de 2ng/ml de GDNF y 0.5ng/ml de TGF-beta1, es decir, en unas proporciones GDNF: TGF- β 1 de entre 2:1 y 4:1, respectivamente.

El documento D01 también divulga el uso de la composición farmacéutica para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad neurológica, entre ellas, Parkinson (ver página 1, líneas 1-2, página 3, líneas 11-16 y reivindicaciones 16-17).

Las características de las reivindicaciones 1-8 de la presente solicitud de invención ya son conocidas del documento D01. Por lo tanto esas reivindicaciones no son nuevas y no implican actividad inventiva a la vista del estado conocido según los artículos 6.1 LP y 8.1 LP

El documento D03 divulga una composición farmacéutica que comprende el factor neurotrófico derivado de la glía (GDNF), y el factor transformante beta1 (TGF- β 1) en un rango de GDNF: TGF- β 1 de entre 2:1 a 4:1 (Ver página 9822, 9828-9832 y figuras 1-2 y 4).

En la figura 1C del documento D03 se muestra la dosis curva-respuesta para la acción combinada de GDNF y TGF-beta1 en los ganglios ciliares del pollo. Los cuadrados representan la supervivencia neuronal lograda en presencia de una cantidad constante de GDNF (2ng/ml) y una cantidad variable de TGF-beta1. En la gráfica se observa que las supervivencias mayores ocurren en presencia de una dosis de 2ng/ml de GDNF y 1ng/ml de TGF-beta1 y de 2ng/ml de GDNF y 0.5ng/ml de TGF-beta1, es decir, en unas proporciones GDNF: TGF- β 1 de entre 2:1 y 4:1, respectivamente.

El documento D03 también divulga el uso de la composición farmacéutica para la elaboración de un medicamento para el tratamiento y/o profilaxis de una enfermedad neurológica, entre ellas, Parkinson.

Las características de las reivindicaciones 1, 4-8 de la presente solicitud de invención ya son conocidas del documento D03. Por lo tanto esas reivindicaciones no son nuevas y no implican actividad inventiva a la vista del estado conocido según los artículos 6.1 LP y 8.1 LP.

2.-ACTIVIDAD INVENTIVA (Art. 8.1 LP).

2.1-Reivindicaciones 2-3.

A la vista del documento D03, todas las características descritas en las reivindicaciones 2-3 son medidas consideradas obvias para un experto en la materia. Así el objeto de las reivindicaciones 2-3 no implica actividad inventiva según el artículo 8.1 LP.

2.2-Reivindicación 11.

A la vista de los documentos D01 y D03, todas las características descritas en la reivindicación 11 relativas al kit que comprende la composición objeto de la presente solicitud de invención son medidas consideradas obvias para un experto en la materia. Así el objeto de la reivindicación 11 no implica actividad inventiva según el artículo 8.1 LP.

2.3- Reivindicaciones 9-10 y 12.

El documento D01 difiere de la presente solicitud de invención en que no se divulga que la administración del medicamento sea por vía intraputamina (reivindicación 9), que la cantidad de GDNF alcanza una concentración diaria en tejido cerebral entre 5 y 50 μ g/día (reivindicación 10). Tampoco divulga el uso de bombas de infusión y catéteres intracerebrales, los cuales están comprendidos en el kit (reivindicación 12).

Sin embargo, estas características ya han sido empleadas para un mismo fin en el documento D02 (ver página 21, líneas 15-16, página 23, líneas 3-5, página 25, línea 25 - página 26, línea 11 y página 47, líneas 17-31).

Por lo tanto, no se aprecia actividad inventiva en el objeto de las reivindicaciones 9-10 y 12 según el artículo 8.1 LP.