

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 442 242**

21 Número de solicitud: 201200810

51 Int. Cl.:

**A61K 35/16** (2006.01)

**A61K 38/18** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

PATENTE DE INVENCION

B1

22 Fecha de presentación:

**09.08.2012**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**10.02.2014**

Fecha de la concesión:

**18.11.2014**

45 Fecha de publicación de la concesión:

**25.11.2014**

73 Titular/es:

**BIOTECHNOLOGY INSTITUTE, I MAS D, S.L.  
(100.0%)**

**San Antonio 15, 5º  
01005 Vitoria (Araba/Álava) ES**

72 Inventor/es:

**ANITUA ALDECOA, Eduardo**

74 Agente/Representante:

**TRIGO PECES, José Ramón**

54 Título: **Composición con factores de crecimiento destinada al tratamiento intranasal de una enfermedad neurodegenerativa u otra patología del sistema nervioso central, y su método de fabricación.**

57 Resumen:

La invención tiene como objeto el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas u otras patologías aplicables mediante la aplicación intranasal de una composición obtenida a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento, o mediante una sustancia terapéutica obtenida a partir de dicha composición, así como la propia composición. Se garantiza que la composición alcanza el sistema nervioso central de forma eficaz desde el punto de vista del tratamiento y al mismo tiempo de forma segura para el paciente.

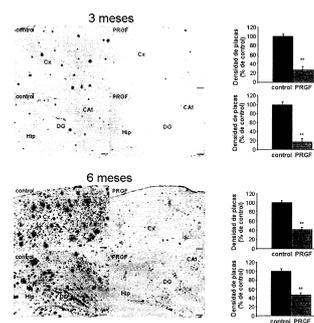


FIG. 1

ES 2 442 242 B1

**COMPOSICIÓN CON FACTORES DE CRECIMIENTO DESTINADA AL  
TRATAMIENTO INTRANASAL DE UNA ENFERMEDAD  
NEURODEGENERATIVA U OTRA PATOLOGÍA DEL SISTEMA  
NERVIOSO CENTRAL, Y SU MÉTODO DE FABRICACIÓN**

5

**DESCRIPCIÓN**

**Sector de la técnica**

10           La invención se refiere a una composición obtenida a partir de al  
menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento, destinada al  
tratamiento por vía intranasal de una enfermedad neurodegenerativa u  
otra patología aplicable. La invención se refiere también al método de  
15           fabricación de dicha composición o de una sustancia terapéutica obtenida  
a partir de dicha composición, y al método de tratamiento por vía  
intranasal de dicha enfermedad neurodegenerativa u otra patología  
aplicable por medio de la composición o la sustancia terapéutica.

**Estado de la técnica**

20

          En el estado de la técnica es conocida de forma muy extensa la  
preparación de composiciones a partir de compuestos sanguíneos que  
contienen factores de crecimiento, obtenidos a partir de la sangre de un  
paciente. Dichas composiciones han demostrado ofrecer propiedades  
25           biológicas muy importantes, especialmente relacionadas con el  
desencadenamiento y favorecimiento de la regeneración de tejidos, la  
disminución del dolor en cierto tipo de dolencias y enfermedades, y otras  
múltiples utilidades. Por ejemplo, algunos usos muy extendidos de  
composiciones obtenidas a partir de compuestos sanguíneos ricos en  
30           factores de crecimiento han sido la regeneración de hueso alveolar en  
cavidades orales durante procedimientos implantológicos y otros, la  
regeneración de tejidos del aparato locomotor (músculos, articulaciones,  
tendones, etc.) y otros.

35

En cuanto al tipo de composiciones ricas en factores de crecimiento conocidas, a modo de ejemplo, se conoce la solicitud de patente WO0044314A1 y la solicitud de patente WO2010130851A2, ambas a favor del propio solicitante de la presente invención. Estas  
5 patentes se refieren a procedimientos de preparación de un gel de plasma sanguíneo autólogo, rico en factores de crecimiento, a partir de la propia sangre del paciente. Ambos procedimientos comparten pasos comunes como son el centrifugado de la sangre del paciente, la separación de plasma rico en plaquetas y la adición de cloruro de calcio al plasma rico  
10 en plaquetas para producir la activación del plasma (la liberación de factores de crecimiento por parte de las plaquetas contenidas en el plasma) y para producir la coagulación del mismo hasta que el plasma adquiere una consistencia similar a un gel. A modo de ejemplo también se conoce, por medio de la patente ES2221770B2, un procedimiento de  
15 preparación de otra composición obtenida a partir de un compuesto sanguíneo rico en factores de crecimiento y con propiedades biológicas muy beneficiosas, en este caso en forma líquida. Concretamente, se trata de un sobrenadante de un plasma sanguíneo rico en factores de crecimiento, obtenido a partir de la fase líquida sobrenadante que aparece  
20 tras provocar la coagulación y una posterior retracción de dicho plasma rico en factores de crecimiento. En esta patente se describen además diversos usos del sobrenadante, entre los cuales destaca su uso (favorecido por su consistencia líquida) como colirio para el tratamiento de enfermedades o dolencias oculares.

25

La presente invención tiene como objetivo ampliar los horizontes terapéuticos de aplicación del gel de plasma rico en factores de crecimiento, del sobrenadante de plasma rico en factores de crecimiento o, en general, de cualquier composición obtenida a partir de un  
30 compuesto sanguíneo que contenga factores de crecimiento.

### **Descripción breve de la invención**

La invención tiene como objeto el tratamiento de enfermedades  
35 neurodegenerativas u otras patologías aplicables mediante una composición obtenida a partir de al menos un compuesto sanguíneo con

factores de crecimiento, o mediante una sustancia terapéutica obtenida a partir de dicha composición. El medio de aplicación de la composición o de la sustancia terapéutica, de acuerdo con la invención, para hacer llegar la misma al sistema nervioso central de forma eficaz desde el punto de vista del tratamiento y al mismo tiempo de forma segura para el paciente, es la aplicación por vía intranasal. La vía intranasal es una vía de acceso al sistema nervioso central no invasiva, que permite una notable facilidad de aplicación de la composición o sustancia terapéutica y por tanto de realización del tratamiento, ya que al contrario que las vías invasivas no exige de inyecciones continuas u otros medios de aplicación traumáticos para el paciente ni produce efectos secundarios en el paciente. Ha de hacerse notar también que la vía intranasal es una vía no invasiva muy relevante desde el punto de vista del acceso al sistema nervioso central, ya que dicho acceso es imposible por otras vías no invasivas debido a la existencia de diferentes barreras fisiológicas, entre las que destaca la barrera hematoencefálica.

#### **Descripción breve de las figuras**

Los detalles de la invención se aprecian en las figuras que se acompañan, no pretendiendo éstas ser limitativas del alcance de la invención:

- La Figura 1 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la formación de placas de beta-amiloide a los tres y seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados mediante un plasma rico en factores de crecimiento aplicado por vía intranasal.
- La Figura 2 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la cantidad de beta-amiloide en su forma de AB40 Y AB42 a los tres y seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados mediante un plasma rico en factores de crecimiento aplicado por vía intranasal.
- La Figura 3 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la astrogliosis a los seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados mediante un plasma rico en factores de

crecimiento aplicado por vía intranasal.

- 5 - La Figura 4 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la neurogénesis a los seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados mediante un plasma rico en factores de crecimiento aplicado por vía intranasal.
- La Figura 5 muestra resultados de dos tests de comportamiento en ratones transgénicos APP/PS1 tratados mediante un plasma rico en factores de crecimiento aplicado por vía intranasal.

## 10 **Descripción detallada de la invención**

15 Existe una zona anatómica en la que es más que previsible puedan encontrarse efectos terapéuticos beneficiosos derivados del uso de composiciones obtenidas a partir de compuestos sanguíneos con factores de crecimiento. Se trata de uno de los más importantes de todos los sistemas que se encuentra en el cuerpo: el sistema nervioso central, encargado de recibir y procesar las sensaciones recogidas por los diferentes sentidos y de transmitir las órdenes de respuesta de forma precisa a los distintos efectores. Concretamente, las células que forman el sistema nervioso central se disponen de tal manera que dan lugar a dos formaciones muy características: la sustancia gris, constituida por los cuerpos neuronales, y la sustancia blanca, formada principalmente por las prolongaciones nerviosas (dendritas y axones), cuya función es conducir la información.

25 En el sistema nervioso central se producen algunas de las enfermedades que hoy en día presentan mayor prevalencia especialmente en individuos de edad avanzada como son las enfermedades neurodegenerativas. Se conoce como enfermedad neurodegenerativa al tipo de enfermedades que agrupa a un género de desórdenes cognitivos, tales como, enfermedad de Alzheimer, de Parkinson, de Huntington, de Creutzfeldt-Jakob o esclerosis múltiple entre otras. Estos trastornos cognitivos son causados por un aumento en los procesos de muerte celular, que reduce en gran medida el número de neuronas y genera cambios en la conducta y una degeneración global progresiva que provoca la muerte del paciente. Además, en muchas de

estas patologías existen alteraciones del flujo sanguíneo a nivel cerebral que producen lesiones más o menos importantes según la localización y el tamaño de la zona afectada y del tiempo durante el cual el paciente permanece sin el tratamiento adecuado.

5

En la actualidad, la administración de agentes tróficos (sustancias que influyen en el crecimiento axónico y en la formación de sinapsis, y que favorecen la supervivencia de las células del sistema nervioso central), antiapoptóticos (sustancias que reducen la muerte celular) y/o inductores de la neovascularización (sustancias que promuevan la formación de vasos sanguíneos) se contempla como un tratamiento esperanzador para algunas de estas enfermedades, no por su capacidad de curar las mismas, sino por su importancia como herramientas terapéuticas que retrasen la evolución de las patologías y con ello, los numerosos cambios cognitivos que producen.

15

No obstante, la administración de sustancias a nivel del sistema nervioso central entraña importantes dificultades galénicas y tecnológicas debidas a las particularidades anatómicas de esta área y al difícil acceso de sustancias a este nivel. Hay que tener en cuenta que el sistema nervioso central, que está constituido por el encéfalo y la médula espinal, está fuertemente aislado del resto del organismo y del medio externo por tres membranas: duramadre (membrana externa), aracnoides (membrana intermedia), piamadre (membrana interna) denominadas genéricamente meninges. Además, el encéfalo y la médula espinal están protegidos por envolturas óseas, que son el cráneo y la columna vertebral respectivamente. Las cavidades de estos órganos (ventrículos en el caso del encéfalo y conducto ependimario en el caso de la médula espinal) están llenas de un líquido incoloro y transparente, que recibe el nombre de líquido cefalorraquídeo. Las funciones del líquido cefalorraquídeo son muy variadas: sirve como medio de intercambio de determinadas sustancias, como sistema de eliminación de productos residuales, para mantener el equilibrio iónico adecuado y como sistema amortiguador mecánico.

20

25

30

35

La invención propone, con el fin de superar las necesidades

actuales de tratar enfermedades del sistema nervioso central de forma viable, el tratamiento de dichas enfermedades (o incluso de otras patologías aplicables) mediante una composición obtenida a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento (el cual  
5 comprende unos agentes terapéuticos que se describen más adelante), o mediante una sustancia terapéutica obtenida a partir de una composición obtenida a su vez a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento. El medio de aplicación de la composición o de la sustancia terapéutica, de acuerdo con la invención, para hacer llegar la  
10 misma al sistema nervioso central de forma eficaz desde el punto de vista del tratamiento y al mismo tiempo de forma segura para el paciente, es la aplicación por vía intranasal. La vía intranasal es una vía de acceso al sistema nervioso central no invasiva, que permite una notable facilidad de aplicación de la composición o de la sustancia terapéutica y de realización  
15 del tratamiento, ya que al contrario que las vías invasivas no exige de inyecciones continuas u otros medios de aplicación traumáticos para el paciente ni produce efectos secundarios en el paciente. Ha de hacerse notar también que la vía intranasal es una vía no invasiva muy relevante desde el punto de vista del acceso al sistema nervioso central, ya que  
20 dicho acceso es imposible por otras vías no invasivas debido a la existencia de diferentes barreras fisiológicas. Además, la administración intranasal es sencilla, segura y fácil de emplear, lo que permitirá que el paciente se suministre la medicación sin la necesidad de ayuda por parte de otras personas.

25

La aplicación del compuesto sanguíneo con factores de crecimiento por vía intranasal permite la llegada del compuesto sanguíneo y sus agentes terapéuticos al sistema nervioso central y la consecución de sus efectos biológicos de la forma que se explica a continuación. Los nervios  
30 olfatorios y trigéminos, que inervan la cavidad nasal, proporcionan una conexión de la cavidad nasal directa con el sistema nervioso central. El trigémino no aporta ramas a la región olfatoria pero inerva el epitelio respiratorio y el vestíbulo de la cavidad nasal; además, establece una conexión con el sistema nervioso central, especialmente con la región  
35 caudal del cerebro, el tallo cerebral y la médula espinal, y transmite la información sensorial desde la cavidad nasal hasta estas regiones. Por lo

tanto, estos condicionantes otorgan a la mucosa nasal unos atributos anatómicos y fisiológicos muy particulares, que facilitan introducir en el organismo medios terapéuticos que pueden alcanzar el sistema nervioso central después de la instilación nasal, y de esta forma eludir la barrera hematoencefálica.

En la región olfativa se pueden producir mecanismos de transporte intracelulares, extracelulares y perivasculares. La ruta intracelular de una sustancia hacia el sistema nervioso central se hace a través de la captación de dicha sustancia por las dendritas de las neuronas olfativas, por pinocitosis o por simple difusión, y posterior traslado por el nervio olfatorio. El mecanismo de transporte extracelular o paracelular facilita el paso de la sustancia entre las células del epitelio nasal y su rápida entrada en los canales perineurales (creados por las células olfativas envolventes que rodean a las ramas del nervio olfatorio), lo que permite a la sustancia alcanzar el líquido cefalorraquídeo y el bulbo olfatorio. Desde el líquido cefalorraquídeo, la sustancia se puede mezclar con el líquido intersticial presente en el cerebro, lo que facilita su distribución por todo este órgano; además, la sustancia puede entrar en los espacios perivasculares existentes en la mucosa nasal y en el tejido cerebral para distribuirse rápido en todo el sistema nervioso central.

Por compuesto sanguíneo con factores de crecimiento se entiende un gel de plasma que contenga en factores de crecimiento, un sobrenadante de plasma que contenga factores de crecimiento o, en general, cualquier compuesto sanguíneo autólogo (donante y receptor es la misma persona) o heterólogo (donante y receptor son personas distintas) preparado según cualquier método de preparación aplicable. Los factores de crecimiento pueden encontrarse liberados o no. El sobrenadante, el gel u otro compuesto sanguíneo podrá haber sido recientemente preparado, o bien podrá haberse encontrado preparado previamente y almacenado (por ejemplo mediante la técnica de tratamiento térmico, liofilización y posterior re-suspensión propuesta por la solicitud de patente ES2369945A1 a favor del propio solicitante).

A lo largo de los últimos 20 años se ha realizado un profundo

estudio con el ánimo de determinar el conjunto de sustancias (proteínas, péptidos, factores de crecimiento, etc) presentes en los compuestos sanguíneos. Hoy en día es sabido que el plasma y fundamentalmente las plaquetas presentan un importante cóctel de sustancias que incluyen  
5 agentes neurotróficos como el NGF o factor de crecimiento nervioso, sustancias angiogénicas o promotoras de la formación de vasos sanguíneos como el VEGF, angiopoietinas, PDGF, EGF, IGF-I, etc. y agentes antiapoptóticos como el propio VEGF.

10 Por composición se entiende cualquier composición obtenida a partir de al menos un compuesto sanguíneo como el descrito, pudiendo la composición contener o no componentes celulares hemáticos (plaquetas, eritrocitos y glóbulos blancos).

15 Por sustancia terapéutica se entiende la composición misma o bien una sustancia obtenida a partir de dicha composición con fines terapéuticos.

20 Entonces, es objeto de la invención una composición obtenida a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento, para su uso como medicamento de aplicación intranasal para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.

25 Por ejemplo, de forma preferente se propone que la composición sea un sobrenadante y que el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento sea un plasma sanguíneo. En ese caso, es objeto de la invención tal sobrenadante, para su uso como sustancia terapéutica de aplicación intranasal para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa. La naturaleza líquida del sobrenadante, su fluidez y propiedades osmóticas hacen que sea un preparado ideal para su  
30 administración por vía nasal.

35 En otro modo de realización, la composición es un gel y el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento es un plasma sanguíneo. En este caso, es objeto de la invención tal gel, para su uso como sustancia terapéutica de aplicación intranasal para el tratamiento de

una enfermedad neurodegenerativa. El uso de una composición de tipo gel permite la cesión de los factores de crecimiento durante varias semanas lo que a su vez permite reducir el número de veces que el paciente debe administrarse la composición.

5

Es también objeto de la invención un método de fabricación de una sustancia terapéutica destinada al tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa por vía intranasal, caracterizado por que en dicho método se comprende la utilización de al menos una composición  
10 obtenida a su vez a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento.

De forma preferente se propone que la composición sea un sobrenadante y que el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento  
15 sea un plasma sanguíneo. En ese caso, es objeto un método de fabricación de una sustancia terapéutica destinada al tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa por vía intranasal, basado en que la sustancia terapéutica sea directamente dicho sobrenadante o bien se apliquen tratamientos sobre dicho sobrenadante para dotar al mismo de  
20 una consistencia o presentación especialmente indicada para la aplicación intranasal.

En otro modo de realización, la composición es un gel y el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento es un plasma  
25 sanguíneo. En ese caso, es objeto un método de fabricación de una sustancia terapéutica destinada al tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa por vía intranasal, basado en que la sustancia terapéutica sea directamente dicho gel o bien se apliquen tratamientos sobre dicho gel para dotar al mismo de una consistencia o presentación  
30 especialmente indicada para la aplicación intranasal.

Es también objeto de la invención un método de tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, donde dicho método de tratamiento  
35 comprende la aplicación intranasal de una sustancia terapéutica obtenida a partir de una composición obtenida a su vez a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento.

Nuevamente, de forma preferente se propone que la composición sea un sobrenadante y que el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento sea un plasma sanguíneo. En ese caso, es objeto de la invención un método de tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, basado en la aplicación por vía intranasal de una sustancia terapéutica que puede ser el sobrenadante mismo o bien un producto a su vez derivado del sobrenadante.

Asimismo, en otro modo de realización la composición es un gel y que el compuesto sanguíneo con factores de crecimiento es un plasma sanguíneo. En este caso, es objeto de la invención un método de tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa, basado en la aplicación por vía intranasal de una sustancia terapéutica que puede ser el gel mismo o bien un producto a su vez derivado del gel.

A continuación se describen resultados experimentales que demuestran la efectividad del tratamiento de enfermedades neurodegenerativas por medio de la aplicación por vía intranasal de una sustancia terapéutica obtenida a partir de una composición obtenida a su vez a partir de al menos un compuesto sanguíneo con factores de crecimiento.

La Figura 1 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la formación de placas de beta-amiloide a los tres y seis meses en ratones transgénicos APP/PS1. Se ha medido concretamente la densidad de placas en animales tratados por vía intranasal con un Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF), en comparación con un grupo de control formado por animales enfermos no tratados. El PRGF ha sido obtenido para estos experimentos mediante el método de preparación descrito en US6569204. La beta-amiloide ( $A\beta$ ) es un péptido de 36 a 43 aminoácidos que se sintetiza a partir de la proteína precursora amiloide. Aunque es generalmente conocida por su relación con la enfermedad de Alzheimer, no se conoce todavía si es causa o efecto de la enfermedad. La beta-amiloide es el principal componente de las placas seniles (depósitos que se encuentran en el cerebro de los pacientes con la enfermedad de

Alzheimer). Un aumento en los niveles totales de A $\beta$  o un aumento en la concentración tanto de A $\beta$ 40 y A $\beta$ 42 se relaciona completamente con la patogenia de la enfermedad de Alzheimer. Los datos de la Figura 1 corresponden tanto a la región del córtex (Cx) como al hipocampo (Hip),  
5 mostrándose también el área CA1 del hipocampo y el giro dentado (DG). Los resultados muestran con claridad como los animales que recibieron PRGF por vía intranasal presentan niveles significativamente menores de placas, independientemente de la localización y el tiempo de seguimiento.

10 La Figura 2 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la cantidad de beta-amiloide en su forma de AB40 Y AB42 a los tres y seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados con PRGF, en comparación con un grupo de control formado por animales enfermos no tratados. Los datos corresponden tanto a la región del córtex (Cx)  
15 como al hipocampo (Hip). Los resultados muestran con claridad como los animales que recibieron PRGF por vía intranasal presentan niveles significativamente menores de ambos tipos de beta-amiloide, responsables en parte del daño neuronal, independientemente de la localización y el tiempo de seguimiento.

20 La Figura 3 muestra resultados de estudios en los que se ha medido el grado de astrogliosis o crecimiento anormal de astrocitos debido a la destrucción de neuronas próximas en ratones transgénicos APP/PS1 tratados con PRGF, en comparación con un grupo de control  
25 formado por animales enfermos no tratados. Los astrocitos son las principales y más numerosas células gliales (células del sistema nervioso que sirven de soporte de las neuronas e intervienen activamente en el procesamiento cerebral de la información en el organismo). La presencia de astrogliosis es un indicativo de la toxicidad presente en el cerebro. En  
30 general, la presencia de placas de beta-amiloide aumentan los niveles de astrocitos reactivos o astrogliosis. Los datos corresponden tanto a la región del córtex (Cx) como al hipocampo (hip) y el giro dentado (DG). Los resultados muestran con claridad cómo los animales que recibieron PRGF por vía intranasal presentan niveles significativamente menores de  
35 astrocitos reactivos independientemente de la localización y el tiempo de seguimiento.

La Figura 4 muestra resultados de estudios en los que se ha medido la neurogénesis (la diferenciación de nuevas neuronas a partir de células precursoras) a los seis meses en ratones transgénicos APP/PS1 tratados con PRGF, en comparación con un grupo de control formado por animales enfermos no tratados. Los datos corresponden a la región del hipocampo (Hip). Los resultados muestran con claridad como los animales que recibieron PRGF por vía intranasal presentan una neurogénesis significativamente superior. Empleando diferentes tipos de tinciones (correspondientes al primer, segundo y tercer par de fotografías comparativas) puede observarse la presencia de un mayor número de células nuevas en las histologías pertenecientes al grupo tratado con PRGF. En concreto, con el fin de determinar con exactitud el fenotipo celular de estas nuevas células se decidió realizar una doble inmunohistoquímica (BrdU/NeuN) con la cual es posible marcar no solo las células en división, por lo tanto de nueva creación, si no también específicamente si son neuronas, gracias al marcaje NeuN.

La Figura 5 muestra los resultados de dos tests de comportamiento que valoran la memoria a corto y medio plazo y otros síntomas asociados a la enfermedad de Alzheimer como la apatía. Los tests se han realizado sobre tres grupos de ratones transgénicos APP/PS1: un grupo de animales sanos, un grupo de control formado por animales enfermos (con Enfermedad de Alzheimer) no tratados y un grupo de animales con idéntica enfermedad pero tratados con PRGF por vía intranasal. Los datos reflejan que los ratones transgénicos APP/PS1 que recibieron PRGF por vía intranasal presentan valores de recuperación en los tests de comportamiento, reflejando una mejora significativa frente a los ratones enfermos no tratados.

Concretamente, en el primer test se procedió a situar a los animales en un laberinto con forma de T ("T-maze") donde se había cerrado inicialmente uno de los brazos laterales del laberinto y se dejó a los animales completar el otro brazo. Posteriormente, se introdujeron nuevamente los animales y se analizó en tiempo que necesitaron para acudir al brazo que conocían del experimento anterior. Los animales del

grupo de control no recordaban bien lo realizado y mostraban apatía y miedo, lo que hizo que tardasen más tiempo en completar el experimento. En cambio, los animales enfermos que recibieron un tratamiento intranasal terminaron el experimento en un tiempo significativamente menor que los animales del grupo de control, es decir, enfermos no tratados.

Por otra parte, el segundo test o estudio de reconocimiento de objetos (cuyas siglas en inglés son "ORT") se basó en la exploración por parte del animal de una zona central perfectamente identificada dentro de un espacio de forma cuadrada. Típicamente, un animal enfermo muestra dificultades para explorar zonas nuevas, más aun cuando dichas zonas no están cerca de las paredes lo que hace que sienta temor a lo desconocido. En el ensayo se cuantificó el tiempo que los animales pasaban en la zona central delimitada y se comparó con el tiempo total de reconocimiento (mostrando la gráfica el ratio del primer tiempo y el segundo tiempo, de manera que un mayor ratio indica una mayor situación cognitiva). Se midieron los comportamientos de idénticos tres grupos de animales que en el ensayo anterior. Como puede observarse, los animales tratados con PRGF sufrieron una importante mejora en su comportamiento tanto a los tres como a los seis meses con respecto a los animales enfermos no tratados (grupo de control).

## REIVINDICACIONES

5 1. Uso de una composición obtenida de un plasma rico en factores de crecimiento para preparar un medicamento destinado al tratamiento intranasal de una enfermedad neurodegenerativa u otra patología del sistema nervioso central.

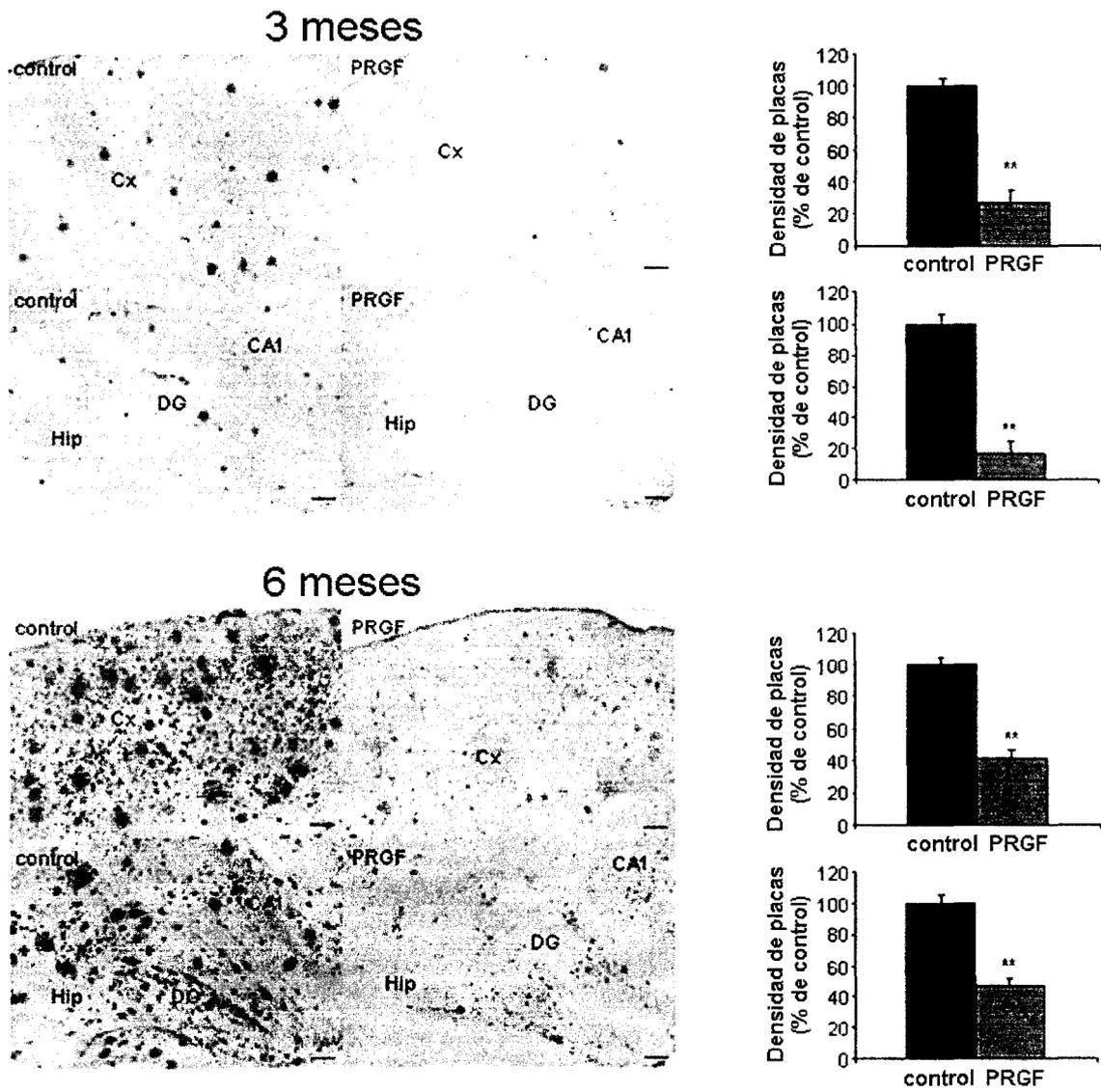
10 2. Uso, según la reivindicación 1, donde la composición es un sobrenadante.

3. Uso, según la reivindicación 1, donde la composición es un gel.

15 4. Método de fabricación de una sustancia terapéutica destinada al tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa u otra patología del sistema nervioso central por vía intranasal, caracterizado por que comprende la utilización de una composición obtenida a partir de un plasma rico en factores de crecimiento.

20 5. Método, según la reivindicación 4, donde la composición es un sobrenadante de plasma.

6. Método, según la reivindicación 4, donde la composición es un gel de plasma.



**FIG.1**

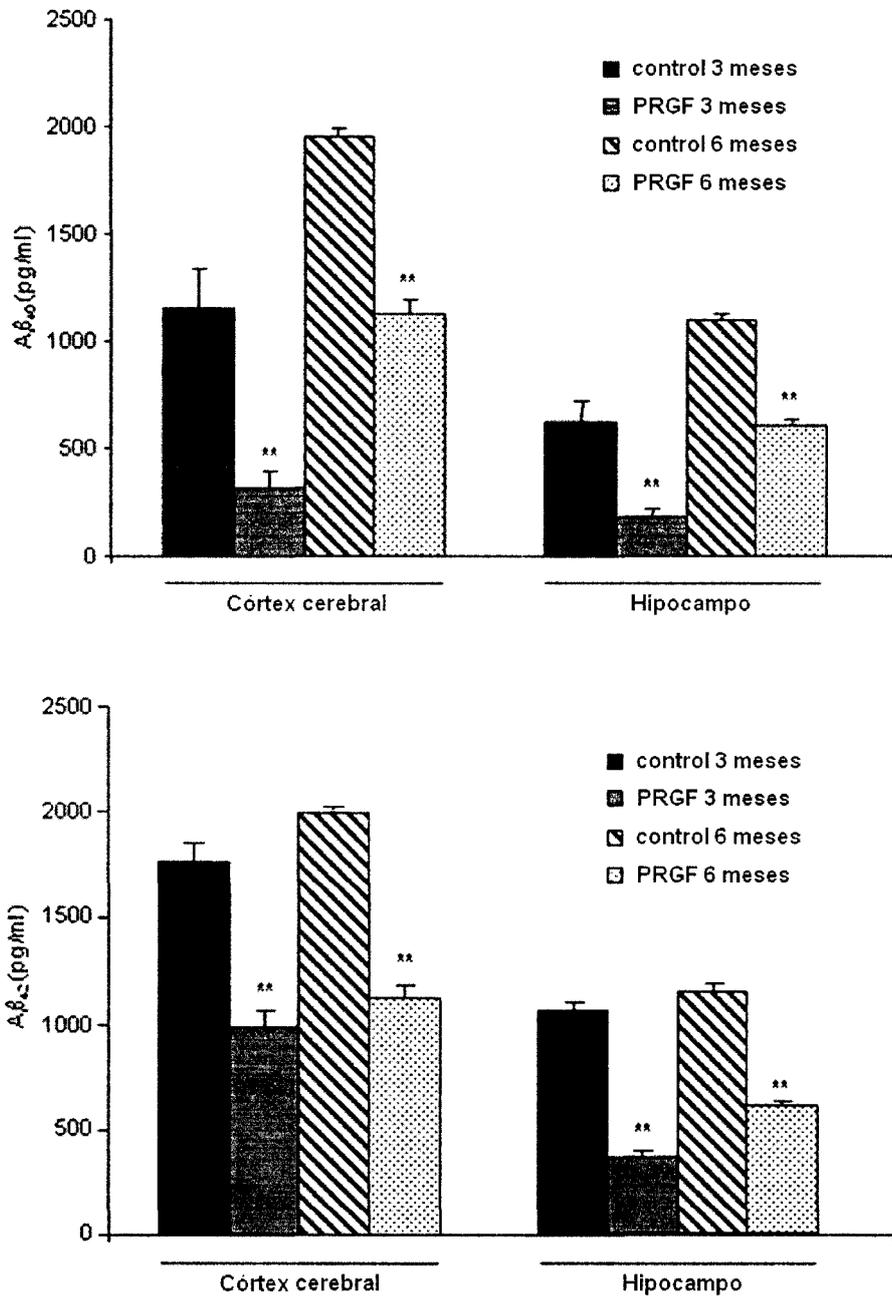


FIG.2

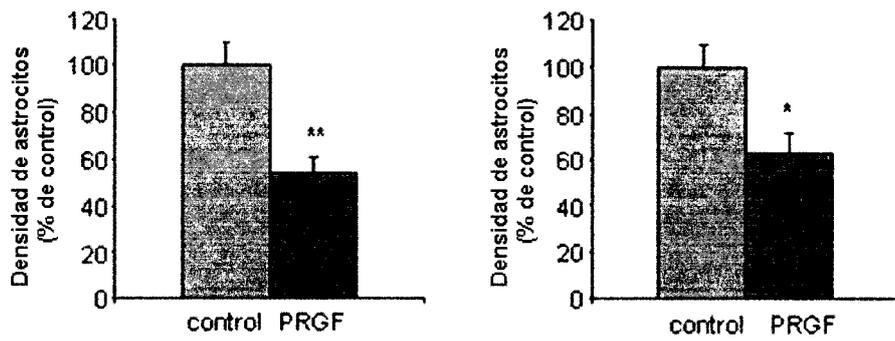
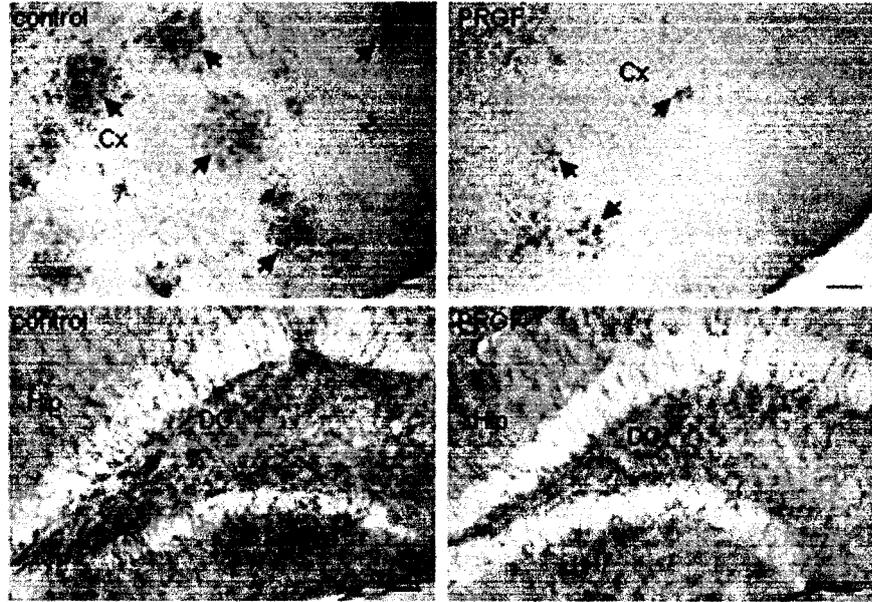


FIG.3

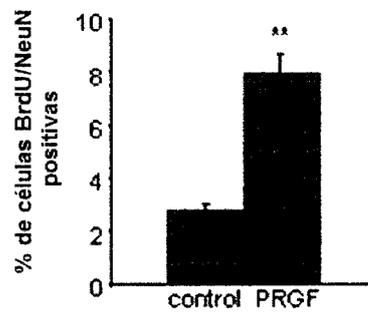
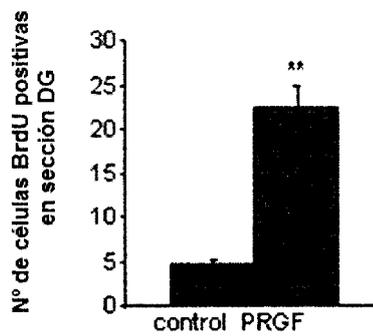
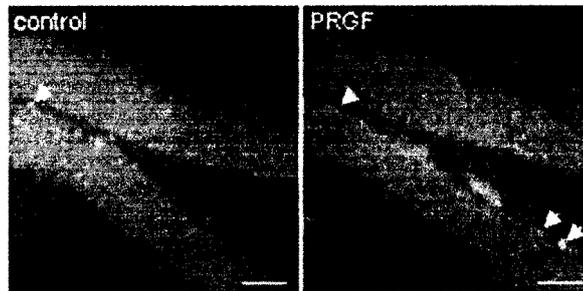
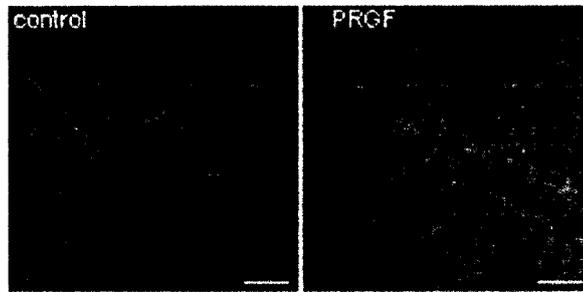
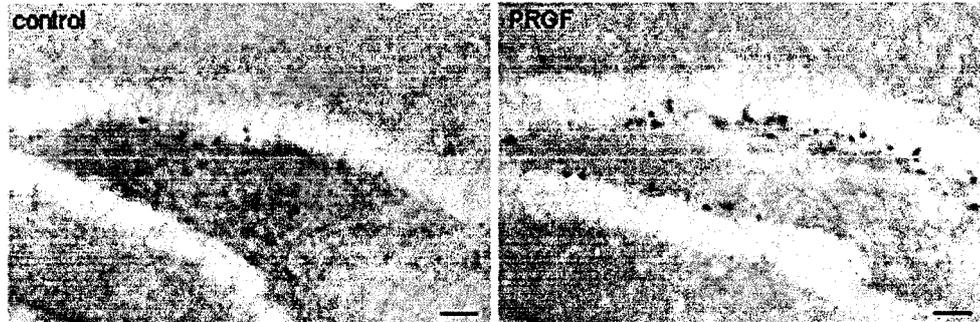


FIG.4

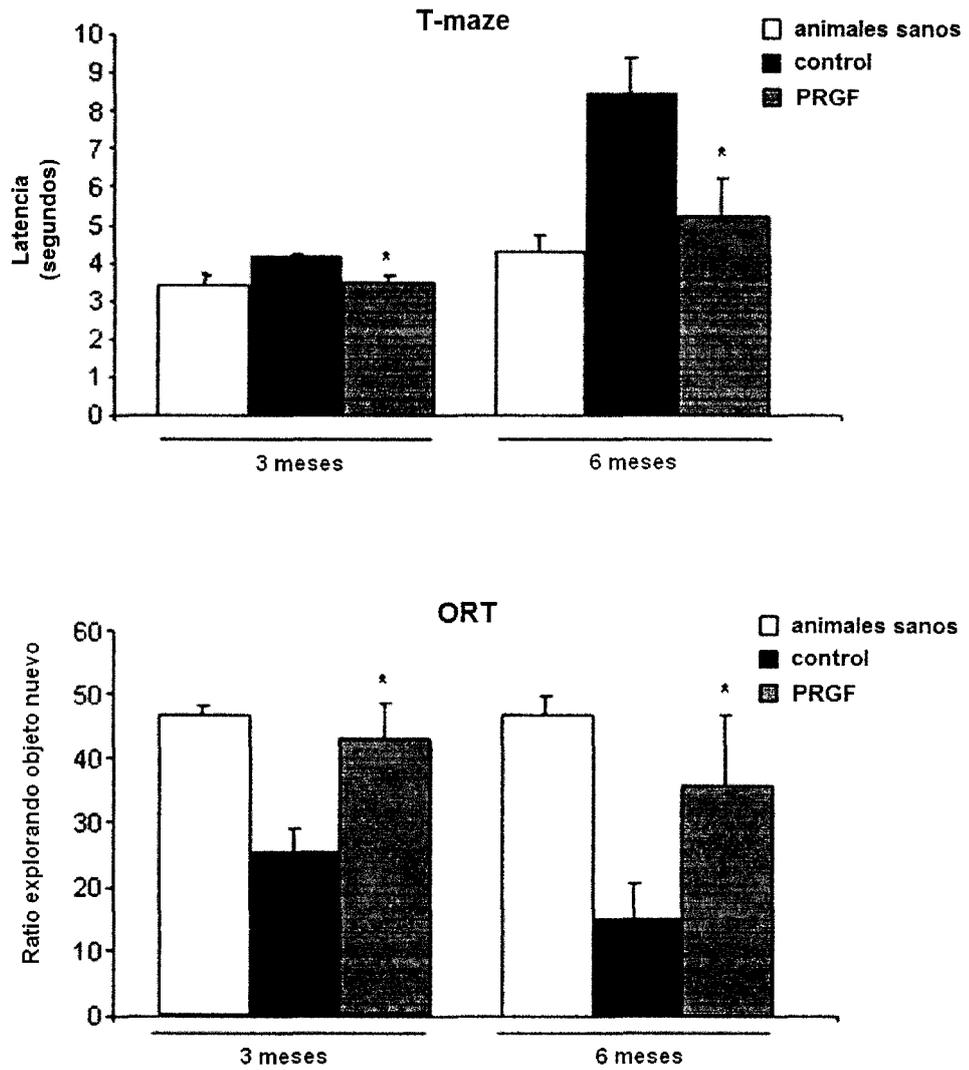


FIG.5



- ②① N.º solicitud: 201200810  
②② Fecha de presentación de la solicitud: 09.08.2012  
③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	WO 0033813 A1 (CHIRON CORP) 15.06.2000, todo el documento, especialmente ejemplos y reivindicaciones 1,6,12,13,14,15.	1-6
X	JIN KUNLIN <i>et al.</i> Cerebral neurogenesis is induced by intranasal administration of growth factors. Annals of neurology. Mar 2003 VOL: 53 No: 3 Pags: 405-409. ISSN 0364-5134 (Impreso). Ver todo el documento.	1-6
A	GREINER J F W <i>et al.</i> Efficient animal-serum free 3D cultivation method for adult human neural crest-derived stem cell therapeutics. European Cells and Materials Dic 2011 VOL: 22 Pags: 403-419. ISSN 1473-2262 (Impreso). Ver todo el documento.	1-6
A	ES 2306655 T3 (ANITUA ALDECOA EDUARDO) 16.11.2008, todo el documento.	1-6

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  
01.07.2013

Examinador  
B. Pérez Esteban

Página  
1/5

## CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

**A61K35/16** (2006.01)

**A61K38/18** (2006.01)

**A61P25/28** (2006.01)

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

A61P

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

EPODOC, WPI, TXTUS0, TXTUS1, TXTUS2, TXTUS3, TXTUS4, TXTUS5, TXTEP1, TXTGB1, TXTWO1, TXTAU1, TXTCA1, MEDLINE, BIOSIS, NPL, EMBASE, XPESP, XPESP2.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 01.07.2013

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-6	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones	<b>SI</b>
	Reivindicaciones 1-6	<b>NO</b>

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	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 0033813 A1 (CHIRON CORP)	15.06.2000
D02	JIN KUNLIN <i>et al.</i> Cerebral neurogenesis is induced by intranasal administration of growth factors. <i>Annals of neurology</i> . Mar 2003 VOL: 53 No: 3 Pags: 405-409. ISSN 0364-5134 (Impreso).	Marzo 2003
D03	GREINER J F W <i>et al.</i> Efficient animal-serum free 3D cultivation method for adult human neural crest-derived stem cell therapeutics. <i>European Cells and Materials</i> Dic 2011 VOL: 22 Pags: 403-419. ISSN 1473-2262 (Impreso).	Diciembre 2001
D04	ES 2306655 T3 (ANITUA ALDECOA EDUARDO)	16.11.2008

**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 reivindica el uso de una composición obtenida de un plasma rico en factores de crecimiento para preparar un medicamento destinado al tratamiento intranasal de una enfermedad neurodegenerativa. La composición se puede aplicar en forma de sobrenadante o de gel.

No se ha encontrado en el estado de la técnica ningún documento que divulgue el uso reivindicado para una composición idéntica a la de la solicitud, por lo que las reivindicaciones 1 a 6 de la presente solicitud son nuevas según el artículo 6 de la Ley 11/1986 de Patentes.

Hay, sin embargo, varios documentos en el estado de la técnica en los que se describe la utilización de factores de crecimiento para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Como se explica a continuación, estos documentos afectan la actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 6 de la solicitud, según el artículo 8 de la Ley de Patentes.

Así, en el documento D01 se describe el efecto que tiene la administración intranasal de varios factores de crecimiento (en concreto, IGF-I, FGF y NGF) en la regeneración del sistema nervioso central, y se indica que la administración del compuesto puede realizarse en forma de líquido o gel (ver, por ejemplo, página 22, líneas 31 y 32, o reivindicación 6).

Si bien en la presente solicitud se emplea plasma rico en factores de crecimiento y en D01 se administran los factores de crecimiento aislados, en el documento citado se indica que estos factores se pueden aislar y purificar de suero o plasma (ver página 8, líneas 21 y 22, o página 18, líneas 26 y 27), por lo que se pueden considerar incluidos en las "composiciones obtenidas de un plasma rico en factores de crecimiento" de la reivindicación 1 de la solicitud.

En cualquier caso, resulta evidente para el experto en la materia, una vez conocido el efecto neuroregenerador de estos factores de crecimiento, emplear para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas una composición (el plasma rico en factores de crecimiento) que se conoce sobradamente que contiene esos mismos factores de crecimiento (entre otros).

Además, existen documentos en el estado de la técnica (en este informe se cita el documento D03, ver más abajo) que describen la utilidad del plasma sanguíneo para estimular el crecimiento *in vitro* de células neuronales en matrices tridimensionales.

Por todo ello, las reivindicaciones 1 a 6 de la solicitud no cumplen el requisito de actividad inventiva según el artículo 8 de la Ley de Patentes, a la luz de lo divulgado en el documento D01.

En el documento D02 se demuestra que la aplicación intranasal de los factores de crecimiento FGF-2 y HB-EGF estimula la neurogénesis en el cerebro de ratas adultas, por lo que se puede utilizar para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. El mero hecho de emplear la composición en forma de sobrenadante o de gel no aporta actividad inventiva a la solicitud, ya que se trata de técnicas conocidas en el campo técnico de la solicitud, como indica el propio solicitante, y como se puede ver, por ejemplo, en el documento D04 (ver más adelante). De igual manera que para el documento anterior, se considera que el documento D02 afecta la actividad inventiva de las reivindicaciones 1 a 6 de la solicitud, según el artículo 8 de la Ley de Patentes.

A continuación se citan dos documentos que, si bien no afectan la novedad ni la actividad inventiva de la solicitud, se han incluido en este informe por considerarse documentos cercanos a la solicitud, y que apoyan los argumentos empleados con los documentos D01 y D02.

En el documento D03 se describe el cultivo de células madre neuronales en matrices tridimensionales suplementadas con plasma sanguíneo, que favorece el crecimiento y diferenciación de las mencionadas células madre. En las conclusiones finales se expone el posible uso de las células madre y el plasma sanguíneo para tratamientos regenerativos de sistema nervioso y tejido óseo.

Por último, en el documento D04 se divulga la preparación de un plasma rico en factores de crecimiento y su uso en tratamientos terapéuticos, en este caso, para regeneración ósea.