

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 627**

51 Int. Cl.:

A61K 31/439 (2006.01)

A61K 31/438 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.03.2008 E 08724245 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 2120937**

54 Título: **Una composición que comprende (R)-Spiro[l-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina (AZD0328) y su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, ADHD o disfunción cognitiva**

30 Prioridad:

19.03.2007 US 895504 P

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

07.10.2013

73 Titular/es:

**ASTRAZENECA AB (50.0%)
151 85 Södertälje, SE y
YALE UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**CASTNER, STACY A.;
HUDZIK, THOMAS;
MAIER, DONNA L.;
MRZLJAK, LADISLAV;
PISER, TIMOTHY;
SMITH, JEFF S.;
WIDZOWSKI, DAN y
WILLIAMS, GRAHAM V.**

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 424 627 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

Una composición que comprende (R)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina (AZD0328) y su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, ADHD o disfunción cognitiva.

Campo de la invención

- 5 La presente invención provee composiciones farmacéuticas para tratar ciertas condiciones neurológicas, ciertas condiciones psiquiátricas, y otras condiciones en las cuales los sujetos tienen función cognitiva disminuida.

Antecedentes de la invención

- 10 Las enfermedades que disminuyen la función cognitiva normal incluyendo enfermedades psiquiátricas tales como esquizofrenia y enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer impactan a los que las sufren y sus familias y engendran enorme sufrimiento social y personal, angustia y costes.

- 15 El subtipo α_7 del receptor nicotínico neuronal (α_7 NNR) ha sido considerado como un objetivo prometedor para terapias efectivas en varias enfermedades que causan disminución cognitiva. Por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa invariablemente fatal caracterizada por la disminución progresiva de la memoria, capacidades de aprendizaje, reconocimiento de objetos, desorientación y declinación en la función del lenguaje. La neurodegeneración en pacientes de AD se caracteriza por pérdida progresiva de neuronas en el lóbulo frontal basal que sintetiza y libera el neurotransmisor acetilcolina (ACh). La acetilcolinesterasa (AChE) termina la neurotransmisión colinérgica hidrolizando acetilcolina y un tratamiento con inhibidores de acetilcolinesterasa (AChEI) provee a los pacientes de AD con un mejoramiento sintomático modesto en la función cognitiva, lo más probablemente prolongando la neurotransmisión colinérgica. Hay una gran necesidad médica por fármacos con efectos sintomáticos mejorados y más sostenidos y una tolerabilidad mejorada sobre los fármacos de AChEI. Se ha postulado ampliamente que los agonistas de actuación directa de diversos receptores colinérgicos, incluyendo los α_7 NNR, pueden restaurar la señalización perdida del receptor colinérgico, y por lo tanto representan agentes terapéuticos potenciales atractivos superiores a AChEI. Tales medicinas están contempladas para mejorar la calidad de vida y reducir la carga de los profesionales de la salud.

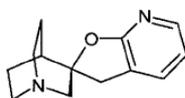
- 25 La esquizofrenia se caracteriza por déficits cognitivos (disminución de la memoria de trabajo, planeación, déficits de atención) y los así llamados síntomas positivos (alucinaciones, delirios, pensamiento desordenado, hostilidad) o síntomas negativos (afecto descortés, apartamiento social, pobre entendimiento). El estatus cognitivo, síntomas no positivos o síntomas no negativos, se correlacionan con el resultado funcional. Los fármacos antipsicóticos típicos y atípicos disponibles proveen un control efectivo de solamente los síntomas positivos.

- 30 Estudios clínicos y preclínicos extensos han demostrado que los déficits cognitivos en la esquizofrenia (CDS) están asociados consistentemente con la disfunción del córtex prefrontal dorsolateral (dIPFC). La disfunción de la neurotransmisión de GABA, glutamato y dopamina en el PFC representa la hipótesis mecanística de guía de la disfunción cortical y de la disminución cognitiva en la esquizofrenia. La activación de la neurotransmisión de glutamato, GABA y dopaminérgica para influir en la plasticidad de la sinapsis de PFC que configura la actividad de red que subsirve los dominios cognitivos disminuidos en la esquizofrenia puede normalizar la función de dIPFC en pacientes esquizofrénicos normalizando por lo tanto el desempeño de las tareas cognitivas, mejorando la función cognitiva global, y potenciando la reintegración social de estos pacientes. Hay una gran necesidad médica por fármacos que mejoren la función cognitiva en pacientes esquizofrénicos. Se ha postulado ampliamente que los agonistas de acción directa de diversos receptores colinérgicos, incluyendo α_7 NNR, podrían normalizar la función de GABA, de glutamato o dopaminérgica en dIPFC, y representan así agentes terapéuticos potenciales atractivos para el tratamiento de déficits cognitivos en la esquizofrenia.

- 45 El subtipo α_7 de receptores de acetilcolina nicotínica (receptor α_7) son canales de iones con compuertas de ligandos implicados en la modulación del heterorreceptor sináptico de sistemas neurotransmisores principales, la plasticidad sináptica y el aprendizaje y la memoria. El AZD0328 es un agonista selectivo potente del receptor α_7 que puede modular la neurotransmisión en el hipocampo y de GABA, de glutamato y dopaminérgica cortical activando el receptor α_7 .

Descripción de la invención:

Hemos descubierto que (R)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] que tiene la siguiente estructura:



(AZD0328 o AZD0328), cuando se administran en ciertas dosis bien por debajo de 0.1 mg por kg (miligramos por kilogramo de peso corporal del animal) a ratas, ratones y monos rhesus, mejora el desempeño en algunas pruebas cognitivas. Así, se espera que el compuesto provea alivio de la pérdida de la memoria y deficiencias cognitivas observadas en pacientes con enfermedad de Alzheimer, para el tratamiento del déficit de atención/trastorno de hiperactividad (ADHD), para el tratamiento de la disfunción cognitiva en pacientes con esquizofrenia o para el tratamiento de disfunción cognitiva y/o para proveer un adjunto a terapias antipsicóticas actuales para mejorar los déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia cuando se administran entre 0.025 mg y 0.68 mg a los pacientes.

Previamente, se ha descrito el AZD0328, por ejemplo, en la Patente de los Estados Unidos 6,110,914 y en las patentes mundiales contraparte, como un agonista de α_7 . En un modelo ampliamente usado de disfunción cognitiva utilizando ratas transeptadas en la fimbria fornix las cuales se han expuesto al ejecutar las tareas de No Correspondencia Retardada a la Posición o Refuerzo Diferencial de Bajas Ratas de Respuesta, la dosis agonística de 1 mg por kg y superiores de AZD0328 compensaron efectivamente las deficiencias de acetilcolina de estos animales. Estas dosis estuvieron asociadas con las concentraciones en plasma a las cuales el AZD0328 actúa como un agonista en receptores α_7 in vitro. Sin embargo, concentraciones más bajas no fueron efectivas en estos sistemas modelo.

Hemos descubierto ahora que las concentraciones subagonísticas de AZD0328 disparan el potenciamiento de la cognición en una variedad de modelos animales. Una dosis eficaz algo varía, de acuerdo con mediciones en diferentes especies y mediante diferentes pruebas,. Por ejemplo, en monos rhesus (*macaca mulatta*) que llevan a cabo una tarea de memoria de trabajo espacial, una dosis de AZD0328 en el rango de 0.00048 a 0.016 mg por kg evoca un mejoramiento sostenido en desempeño, mientras que dosis más altas o más bajas bien no tienen efecto o transientemente disminuyen el desempeño. En ratones (*mus musculus*) que ejecutan una tarea de memoria episódica de Reconocimiento de Objeto Novedoso (NOR), una dosis de AZD0328 en el rango de 0.00178 a 1.78 mg por kg mejoraron el rendimiento. En ratas, (*rattus norvegicus*) que adquieren respuesta operativa para recompensa alimenticia retardada, una dosis de AZD0328 en el rango de 0.001 a 1.8 mg por kg, mejora el desempeño, a la vez que dosis más altas y más bajas resultaron no efectivas.

Estos estudios, tomados en conjunto, ilustran que muy bajas dosis de AZD0328 potencian inesperadamente la cognición y sugieren que tales dosis bajas serán efectivas para tratar la disminución cognitiva en sujetos humanos.

A la vez que no se quiere estar limitado por la teoría, el hallazgo de la potenciación de la cognición en concentraciones de AZD0328 bien por debajo de aquellas capaces de activar los receptores de α_7 sugiere que el efecto está mediado por un mecanismo novedoso.

Se espera que dosis muy bajas de AZD0328 tal como se describen aquí potencien la cognición en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, en el tratamiento del trastorno de déficit de atención/hiperactividad (ADHD), en el tratamiento de disfunción cognitiva en pacientes con esquizofrenia o en el tratamiento de disfunción cognitiva.

Así, proveemos composiciones farmacéuticas para enfermedades neurológicas, psiquiátricas y otras en las cuales se disminuye la función cognitiva. Se usan para administrar una dosis unitaria total de AZD0328 en el rango de 0.025-0.68 mg.

El AZD0328 es un agonista del receptor de α_7 descrito previamente por AstraZeneca y del cual se ha encontrado ahora que mejora el desempeño de tareas cognitivas en modelos animales múltiples. La presente invención surge así de la observación que el AZD0328 mejora el desempeño cognitivo en modelos animales mediante dosis y concentraciones en plasma sorprendentemente bajas, dosis bastante por debajo de las usadas en experimentos anteriores con este compuesto, y a concentraciones en plasma inferiores a aquellas que activan el receptor de α_7 in vitro. Se espera así que el AZD0328 provea alivio en la pérdida de memoria y déficits cognitivos observados en pacientes con la enfermedad de Alzheimer y si se utiliza para proveer un adjunto a terapias antipsicóticas actuales mejorará las condiciones cognitivas en pacientes con esquizofrenia a dosis y concentraciones en plasma sorprendentemente bajas, cuando se administra en dosis bastante por debajo de una dosis de 0.1 mg por kg de peso corporal o 2-10 mg de dosis humana total descritas previamente. Particularmente, se espera que el tratamiento de los pacientes con las dosis de AZD0328 tal como se describen aquí potenciará la cognición cuando se utiliza para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer, para el tratamiento del trastorno de déficit de atención/hiperactividad (ADHD), para el tratamiento de la disfunción cognitiva en pacientes con esquizofrenia o para el tratamiento de la disfunción cognitiva.

De acuerdo con lo anterior, los sujetos que sufren de condiciones caracterizadas por disminución cognitiva pueden ser tratados con pequeñas cantidades de AZD0328, pueden prepararse composiciones farmacéuticas que contienen tales cantidades de AZD0328, y pueden desarrollarse regímenes de tratamiento utilizando AZD0328 para proveer un potenciamiento duradero de la cognición.

La presente invención es beneficiosa porque se logra eficacia con dosis muy bajas que alcanzan concentraciones en plasma de AZD0328 que son insuficientes para producir efectos colaterales serios, tales como prolongación del

intervalo cardiaco QT, la cual ha sido observada en dosis más altas de AZD0328 en varios modelos preclínicos. Debido al uso de estas dosis más bajas se evitarán eventos adversos inducidos por fármacos, administrando AZD0328 para mejorar la función cognitiva a las dosis descritas aquí lo que abre una ventana amplia de dosis seguras y efectivas.

- 5 El compuesto I, o AZD0328, es (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] como un enantiómero estereoquímicamente puro de manera sustancial (la configuración es *R*). El compuesto puede existir como una base o una sal del mismo y particularmente como la sal de D-tartrato monohidratada, denominada de aquí en adelante como tartrato de AZD0328.

- 10 Previamente, estudios de farmacología in vitro mostraron que el AZD0328 es un agonista de los receptores humano, de rata y de ratón de α_7 y que modula la transmisión sináptica de glutamato y GABA activando los receptores de α_7 en cortes de cerebro de ratas y monos. La potencia del AZD0328 para activar los receptores α_7 en estas preparaciones in vitro estuvo en el rango micromolar. En general, fueron necesarias concentraciones superiores a 100 nM de AZD0328 para evocar cualquier activación detectable de receptores de α_7 , bien sean receptores recombinantes de humano, rata o ratón expresados en xenopus oocytes, o en células HEK humanas, o receptores nativos presentes en neuronas de hipocampo de rata agudamente disociadas, o en diversas preparaciones de cortes cerebrales. De manera consistente con estas observaciones, se encontró que dosis de más de 1 mg por kg eran necesarias para revertir los déficits causados por la transección de fimbria-fornix en ratas. Por ejemplo, 1 o 3 mg/kg de AZD0328 reversó los déficits en la potenciación a largo plazo del hipocampo o la exactitud en respuesta en dos pruebas cognitivas diferentes en animales con lesiones en fimbria-fornix (no correspondencia retardada en posición y refuerzo diferencial de ratas bajas de respuesta). La dosis efectiva mínima de 1 mg por kg necesaria para reversar los déficits en el modelo de fimbria fornix en rata produjo concentraciones en plasma en el rango de 0.29-1,4 μ M en la rata, consistente con el rango de concentraciones requerido para activar las respuestas a α_7 in vitro.

- 15 Hemos descubierto ahora que dosis mucho más bajas de AZD0328 que proveen concentraciones en plasma mucho más bajas, pueden mejorar el desempeño de las tareas cognitivas en ratones, ratas y monos. El AZD0328 a dosis bajas incrementa el reconocimiento de objetos novedosos en ratones. En este procedimiento, se habituaron ratones a una cámara en la cual se les permitía "muestrear" dos objetos antes de ser retirados de la cámara. Después de un retardo durante el cual uno de los objetos fue reemplazado con un objeto novedoso, el ratón fue regresado a la cámara para la prueba. Si el retraso era breve, el ratón gastaba más tiempo explorando el objeto novedoso que el objeto familiar, lo cual se cree que indica que el ratón "reconoce" el objeto familiar, una medida de memoria episódica. Bajo estas condiciones, los ratones que recibieron administración subcutánea de AZD0328 antes del muestreo de los objetos exhibieron un índice de reconocimiento de objeto más alto que los ratones que recibieron administración de vehículo. 0.00178, 0.089 o 1.78 mg/kg de sc AZD0328 incrementaron significativamente el índice de reconocimiento de objetos.

- 25 El AZD0328 a dosis bajas facilita la adquisición en ratas de una respuesta operativa para una recompensa alimenticia retardada. En este procedimiento, se colocaron ratas no experimentadas, con restricción de alimento en una cámara durante la noche donde ellas podrían presionar una barra (respuesta) para recibir una pella de alimento (recompensa) después de un retardo. Cuando el retardo entre la respuesta y la recompensa era suficientemente largo para disminuir el número de animales que respondían, las ratas con administración de AZD0328 por vía subcutánea inmediatamente antes de ser colocadas en la cámara respondieron más frecuentemente que las ratas que recibieron administración de vehículo. 0.001, 0.003, 0.01, 0.03, 0.06, 0.6, y 1.8 mg/kg de AZD0328 produjeron un incremento significativo en el número de recompensas ganadas, indicando que estas dosis de AZD0328 facilitan la adquisición de respuesta operativa, lo cual puede ser indicativo de la potenciación de ciertos aspectos de la cognición, incluyendo pero no limitándose a, atención, exploración espacial y formación de contingencias.

- 35 El AZD0328 a dosis bajas mejora el desempeño en la prueba de respuesta espacial retardada en monos. Se entrenaron monos rhesus en una tarea de respuesta espacial retardada. En esta tarea, monos motivados por alimento observaron uno de varios pozos espacialmente desplazados cebados con una recompensa de alimento. Después de un breve retardo durante el cual se extrae un obturador y los pozos se cubren, el mono debe indicar la posición del pozo con cebo para recibir la recompensa de alimento. El desempeño de grupos de monos fue titulado en un rango estrecho cambiando el número de pozos o la duración del retardo. Los monos fueron probados extensamente para establecer un desempeño de línea base antes de recibir la administración del fármaco o el vehículo. La administración intramuscular de 0.00048 y 0.0016 mg/kg de AZD0328 evocó un incremento sostenido en el porcentaje de monos con respuestas correctas en comparación con las respuestas de monos tratados con el vehículo. De manera notable, 0.016 mg/kg de AZD0328 produjo un incremento no significativo en el porcentaje de respuestas correctas dentro de un grupo de monos, aunque un mono en el grupo exhibió un porcentaje significativamente más alto de respuestas correctas en comparación con el desempeño en la línea base. Dosis más altas (\geq 0.016 mg/kg o superior) y dosis más bajas (\leq 0.00016 mg/kg) no tuvieron efecto sobre los monos o mejoraron de manera transiente su desempeño en la tarea.

Los estudios farmacocinéticos en ratas y monos fueron utilizados para estimar las concentraciones en plasma asociadas con las dosis a las cuales el AZD0328 mejora el desempeño cognitivo en estas especies. Por ejemplo, en

- 5 los monos rhesus, se llevaron a cabo dos estudios para determinar el perfil farmacocinético de AZD0328 después de la administración de 0.048 y 1.7 mg por kg de AZD0328. Estos estudios demostraron una relación lineal tanto entre la dosis y las concentraciones máximas en plasma y entre la dosis y la exposición. Estos datos soportan una suposición razonable de linealidad dosis-exposición suficiente para estimar las concentraciones en plasma en dosis mucho más bajas con la misma confianza. Así estimamos que las concentraciones pico en plasma en monos que recibieron AZD0328 a 0.00048-0.016 mg por kg son 0.6-18 nM. Estudios similares y cálculos en ratas, cuando se extendieron a ratones, nos llevó a estimar las concentraciones en plasma en 0.001-0.1 mg por kg de peso corporal en 0.29-100 nM en estas especies. La presente invención se relaciona con aquellas dosis de AZD0328 que alcanzan concentraciones bajas comparables en sujetos humanos que las requieren.
- 10 Las dosis efectivas de AZD0328 pueden ser determinadas experimentalmente mediante estudios clínicos que determinan la exposición con respecto a la dosis en humanos, y estudios subsecuentes que demuestran la función cognitiva potenciada en voluntarios ancianos saludables en el rango de dosis que producen concentraciones en plasma sugeridas por los estudios en modelos animales. La Tabla A muestra exposiciones en plasma medidas en un grupo de voluntarios humanos saludables después de la administración de dosis orales individuales de AZD0328 en el rango terapéutico descrito aquí. Las dosis orales totales de AZD0328 en el rango de 0.025-0.68 mg produjeron concentraciones medias en plasma de 0.6-15 nM, consistentes con el rango de concentraciones en plasma encontradas en asociación con un desempeño mejorado en la prueba de respuesta espacial retardada en monos.
- 15 Las dosis orales totales de AZD0328 en el rango de 0.005-2 mg produjeron concentraciones medias en plasma de 0.17-43.9 nM, dentro del rango de concentraciones en plasma encontradas en asociación con un desempeño mejorado en modelos en roedores.
- 20

Tabla A:

Media geométrica (%CV) de Parámetros PK Después de Dosis Orales Individuales de AZD0328							
Parámetro farmacocinético (Unidades)	Dosis Oral						
	0.005 mg	0.025 mg	0.075 mg	0.23 mg	0.68 mg	1.35 mg	2 mg
C _{max} (nmol/L)	0.17 (24)	0.6 (12)	2.1 (19)	6.4 (31)	15.0 (10)	31.0 (26)	43.9 (17)
T _{max} (h) *	0.8	1.3	1.5	1.5	2.2	3.2	2.5
AUC _{0-t} (nmol·h/L)	NC	4.6 (19)	15.6 (29)	58.8 (38)	132.7 (13)	299.6 (20)	395.1 (15)
AUC (nmol·h/L)	NC	6.1 (18)	16.9 (31)	65.2 (44)	143.6 (15)	333.4 (22)	420.7 (16)
t _{1/2} (h)	NC	6.3 (18)	5.9 (22)	6.7 (24)	6.0 (19)	6.9 (11)	5.6 (9)
CL/F (L/h)	NC	19.0 (18)	20.5 (31)	16.3 (44)	21.9 (15)	18.7 (22)	22.0 (16)
C _{max} /Dosis	0.007 (24)	0.006 (12)	0.006 (19)	0.006 (31)	0.005 (10)	0.005 (26)	0.005 (17)
AUC/Dosis	NC	0.053 (18)	0.049 (31)	0.061 (44)	0.046 (15)	0.054 (22)	0.046 (16)

* - NC Medio - No Calculado

- 25 Se espera que los sujetos que sufren de enfermedad de Alzheimer, trastorno de déficit de atención/hiperactividad (ADHD), disfunción cognitiva en asociación con esquizofrenia o disfunción cognitiva y que requieren de tratamiento se beneficiaran por lo tanto con tratamiento con cantidades de AZD0328 de 0.025-0.68 mg por dosis unitaria y se espera que dé beneficio a los sujetos y provea potenciación en la cognición a sujetos que sufren de Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), Disfunción Cognitiva en Asociación con Esquizofrenia o Disfunción Cognitiva.

Ejemplos:

- 30 **Ejemplo 1.** Un sujeto que sufre de una condición neurológica o psiquiátrica puede ser tratada administrando a un sujeto que así lo requiere, al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (R)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'-(3'H)-furo[2,3-b]piridina].

Ejemplo 2. La condición neurológica o psiquiátrica mencionada en el Ejemplo 1 puede ser seleccionada de Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), Disfunción Cognitiva en asociación con Esquizofrenia o Disfunción Cognitiva.

5 **Ejemplo 3.** El alivio de la pérdida de memoria o deficiencia cognitiva en sujetos descritos en el Ejemplo 2 puede lograrse tratándolos como se describe en el Ejemplo 1.

10 **Ejemplo 4.** El alivio de la pérdida de memoria o deficiencia cognitiva puede proveerse en un sujeto con Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), Disfunción Cognitiva en asociación con Esquizofrenia o Disfunción Cognitiva, administrando a un paciente que así lo requiere, al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina].

Ejemplo 5. Los déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia pueden mejorarse administrando a un paciente que así lo requiere, al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro [1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina].

15 **Ejemplo 6.** Del Ejemplo 1 al 5 pueden llevarse a cabo cuando la dosis terapéuticamente efectiva de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] es suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.17 y aproximadamente 44 nanomolar.

Ejemplo 7. Más particularmente, los Ejemplos 1 a 5 pueden llevarse a cabo cuando la dosis terapéuticamente efectiva es suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.6 y aproximadamente 15 nanomolar.

20 **Ejemplo 8.** Los déficits cognitivos en sujetos con esquizofrenia pueden mejorarse identificando sujetos con esquizofrenia y administrando a dicho sujetos al menos una dosis terapéuticamente efectiva de (*R*)-spiro[1-azabicyclo [2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] donde la dosis está en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos.

25 **Ejemplo 9.** El Ejemplo 8 puede llevarse a cabo determinando adicionalmente la duración de la mejora de los déficits cognitivos después de una primera dosis y administración adicional de dosis terapéuticamente efectivas de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] a intervalos suficientes para mantener dicha mejora de déficits cognitivos.

30 **Ejemplo 10.** Cualquiera de los Ejemplos 1 a 9 puede ser llevado a cabo con una dosis terapéuticamente efectiva seleccionada de aproximadamente 0.026 mg; aproximadamente 0.0261 mg hasta aproximadamente 0.05 mg; aproximadamente 0.051 mg a aproximadamente 0.1 mg; aproximadamente 0.11 mg a aproximadamente 0.18 mg; aproximadamente 0.181 mg a aproximadamente 0.25 mg; aproximadamente 0.251 mg a aproximadamente 0.5; aproximadamente 0.51 mg a aproximadamente 0.7 mg;

35 **Ejemplo 11.** Una composición farmacéutica adecuada para llevar a cabo los Ejemplos 1 a 10 puede prepararse de manera que comprenda una cantidad de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] entre 0.025 miligramos y 0.68 miligramos por dosis unitaria junto con al menos un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Ejemplo 12. Una composición farmacéutica puede comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.17 y aproximadamente 44 nanomolar por dosis unitaria.

40 **Ejemplo 13.** Una composición farmacéutica puede comprender una cantidad terapéuticamente efectiva de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.6 y aproximadamente 15 nanomolar.

45 **Ejemplo 14.** Puede usarse al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] para la terapia de un sujeto que sufre de una condición neurológica o psiquiátrica.

50 **Ejemplo 15.** El uso de 0.025 miligramos hasta 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] para la terapia de un sujeto que sufre de una condición neurológica o psiquiátrica descrita aquí puede lograrse cuando la condición neurológica o psiquiátrica es seleccionada de Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), Disfunción Cognitiva en asociación con Esquizofrenia o Disfunción Cognitiva.

Ejemplo 16. Pueden usarse 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] para proveer alivio de la pérdida de memoria o deficiencia cognitiva en sujetos que así lo requieren.

5 **Ejemplo 17.** Al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] puede utilizarse para proveer terapéuticamente alivio de la pérdida de memoria o deficiencia cognitiva en un sujeto con Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), Disfunción Cognitiva en asociación con Esquizofrenia o Disfunción Cognitiva.

10 **Ejemplo 18.** Puede usarse al menos una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] para mejorar terapéuticamente los déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia.

Ejemplo 19. Cualquiera de los ejemplos 14, 15, 16, 17 ó 18 puede llevarse a cabo mediante el uso de una dosis terapéuticamente efectiva de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.17 y aproximadamente 44 nanomolar.

15 **Ejemplo 20.** Más particularmente, el Ejemplo 19 puede llevarse a cabo con una dosis terapéuticamente efectiva suficiente para proveer un nivel en plasma C_{max} de entre aproximadamente 0.6 y aproximadamente 15 nanomolar.

20 **Ejemplo 21.** El uso de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] en cualquiera de los Ejemplos 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 puede lograrse con una dosis terapéuticamente efectiva seleccionada de entre aproximadamente 0.026 mg; aproximadamente 0.0261 mg hasta aproximadamente 0.05 mg; aproximadamente 0.051 mg hasta aproximadamente 0.1 mg; aproximadamente 0.11 mg hasta aproximadamente 0.18 mg; aproximadamente 0.181 mg a aproximadamente 0.25 mg; aproximadamente 0.251 mg a aproximadamente 0.5; aproximadamente 0.51 mg a aproximadamente 0.7 mg

Ejemplo 22. El (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] también puede usarse en la preparación de un medicamento que comprende una dosis terapéuticamente efectiva en el rango de 0.025 miligramos a 0.68 miligramos.

25 **Ejemplo 23.** Puede usarse (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] en la preparación de un medicamento donde una dosis terapéuticamente efectiva se selecciona entre aproximadamente 0.026 mg; aproximadamente 0.0261 mg a aproximadamente 0.05 mg; aproximadamente 0.051 mg a aproximadamente 0.1 mg; aproximadamente 0.11 mg a aproximadamente 0.18 mg; aproximadamente 0.181 mg a aproximadamente 0.25 mg; aproximadamente 0.251 mg a aproximadamente 0.5; aproximadamente 0.51 mg a aproximadamente 0.7 mg

30 **Ejemplo 24.** Los métodos de tratamiento pueden ser logrados con pesos específicos de (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] seleccionados de aproximadamente 0.026 mg hasta aproximadamente 0.7 mg

35 **Ejemplo 25.** El (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] puede ser usado en la preparación de un medicamento o composición farmacéutica en donde se selecciona una dosis terapéuticamente efectiva desde 0.025 hasta 0.68 mg. En particular, dosis terapéuticamente efectivas de (*R*)-Spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] pueden ser pesos específicos seleccionados de aproximadamente 0.026 mg hasta aproximadamente 0.7 mg

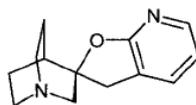
1. Catálogo del investigador

40 Esta Solicitud describe los datos no clínicos que soportan los estudios planeados por primera vez en hombre (FTIM), los cuales tiene como objetivo investigar la farmacocinética (PK), seguridad, tolerabilidad y efecto farmacológico del AZD0328.

1.1 Propiedades físicas, químicas y farmacéuticas y formulaciones

Los aspectos clave de las propiedades físicas, químicas y farmacéuticas y la formulación (véase Sección 3) se resumen a continuación.

- 45
- El tartrato de AZD0328 es una sustancia sólida con una solubilidad en agua de más de 25 mg/ml a pH fisiológico.
 - El AZD0328 tiene la estructura química



- El AZD0328 está disponible como un polvo para solución oral para constitución y dilución.

1.2 Farmacología no clínica

5 Más adelante se da un resumen de las propiedades farmacodinámicas y perfil de seguridad en farmacológica de AZD0328 (véase sección 4.1).

Farmacodinámica primaria

10 El AZD0328 es un ligando de alta afinidad, reversible, de receptores α_7 de cerebro, humanos recombinantes y de rata. En las membranas preparadas bien sea a partir de cultivo, que expresan el receptor de α_7 humano recombinante, células de riñón embrionarias humanas de (α_7 -HEK) o de hipocampo de cerebro de rata, el AZD0328 compitió con el enlazamiento de una forma yodada de la toxina de serpiente antagonista del receptor α_7 selectiva, de alta afinidad, [125 I]- α -bungarotoxina (BTX). La administración sistémica de AZD0328 ocupó los receptores de α_7 del cerebro de rata e incrementó el número de sitios de enlazamiento del receptor de α_7 . Dosis muy bajas de AZD0328 (0.00048-0.0016 mg/kg) mejoraron el desempeño de memoria espacial de trabajo en monos rhesus. El perfil farmacológico de AZD0328 ilustra su utilidad potencial para mejorar la función cognitiva activando el receptor de α_7 .

15 Farmacodinámica secundaria

La selectividad del AZD0328 fue investigada in vitro en 129 objetivos moleculares diferentes al receptor de acetilcolina nicotínico de α_7 . El AZD0328 inhibió el enlazamiento de radioligandos específicos en receptores nicotínico central, de serotonina 5-HT₃, de norepinefrina α_{2B} , y de acetilcolina muscarínica M₃ y M₅.

Farmacología de seguridad

20 En los estudios de farmacología de batería central y seguridad suplementaria no hubo hallazgos mayores de preocupación. La prueba de observación del comportamiento, modificada con la selección de Irwin, en ratas mostró que por debajo de 64.9 mg/kg (300 μ mol/kg) no hubo hallazgos significativos ni propiedades pro o anticonvulsionantes según se determinó en la prueba de ataque inducido por pentilentetrazol. En el estudio de telemetría en perros, la infusión iv de AZD0328 mostró efectos sobre la presión sanguínea, ritmo cardíaco y variables de ECG (incluyendo el intervalo QT, efecto de prolongación > 10% ya en la dosis más baja). No se encontraron efectos respiratorios del AZD0328 en ratas. Dosis orales de 28.1mg/kg (130 μ mol/kg) y superiores inhibieron la motilidad en los intestinos delgado y grueso en ratas en una forma dependiente de la dosis. En conclusión, aunque hay presentes muchos efectos adversos en exposiciones en el rango micromolar, no se considera que estas representen una preocupación de seguridad significativa para pacientes puesto que las concentraciones en plasma terapéuticamente efectivas se esperan en el rango nanomolar bajo.

30

1.3 Farmacocinética y metabolismo del fármaco en animales

Se da a continuación un resumen de las propiedades farmacocinéticas no clínicas de AZD0328 (véase sección 4.2)

Absorción

35 Las propiedades PK y toxicocinéticas (TK) de la AZD0328 han sido investigadas en ratas, hurones, minicerdos, conejos, perros y monos rhesus. La absorción rápida del AZD0328 en los tractos gastrointestinales se observaron en todas las especies, excepto en los minicerdos. La vida media de eliminación no fue bien caracterizada en las especies, pero se observó una vida media de eliminación menor de 5 horas con conejos y hurones. Hablando en general, la eliminación se completó dentro del intervalo de 24 horas con los niveles de dosis probados. En un tratamiento de un mes, no se observó en perros un PK dependiente del tiempo y la dosis. Se mostró un fluido cerebroespinal significativo (CSF) y exposición cerebral en ratas y conejos.

40

Distribución

45 El AZD0328 es una molécula de enlazamiento de proteína baja presente en varias especies incluyendo humanos. Después de una dosis oral individual, se observaron las concentraciones máximas en sangre y plasma del [14 C]-AZD0328 en todos los animales a una postdosis de 0.5 h. La radioactividad derivada de [14 C]-AZD0328 fue distribuida rápidamente a los órganos y tejidos con altos niveles de radioactividad asociados con los contenidos del tracto gastrointestinal y los órganos de excreción principales, incluyendo riñón e hígado. La radioactividad derivada de [14 C]-AZD0328 cruzó la placenta.

Metabolismo

5 El quinuclidinil-*N*-óxido de AZD0328 fue un metabolito principal detectado en todas las incubaciones (incluyendo los microsomas del minicerdo) excepto para hepatocitos humanos. La piridinil metilación del AZD0328 fue un metabolito polar único (M2) observado en hepatocitos de perro. Otros productos menores de hidroxilación/oxidación y conjugación con glucurónido fueron detectados en incubaciones de hepatocitos de mono, perro, rata y cobaya e incubaciones de microsoma hepático de minicerdo.

Excreción

10 La excreción de la radioactividad derivada de [¹⁴C]-AZD0328 en ratas sucedió principalmente a través del riñón. La radioactividad recuperada en la orina y heces ascendió aproximadamente 85% y 8%, respectivamente. No se notó diferencia por género en el estudio.

Interacciones fármaco-fármaco

15 El AZD0328 exhibió efectos inhibidores mínimos hacia CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3As a concentraciones de hasta 21.6 µg/ml (100 µM). El AZD0328 no inhibió significativamente el transporte de digoxina en la prueba basada en células con solamente un 11% de descenso a una concentración de 10.8 µg/ml (50 µM). Esto sugiere que las interacciones fármaco-fármaco causadas por estas enzimas metabólicas principales y el transportador son improbables.

1.4 Toxicología

Los hallazgos toxicológicos claves son como sigue (véase sección 4.3).

- El AZD0328 no es genotóxico en los sistemas de prueba usados.
- 20 • Los efectos del CNS fueron vistos en todas las especies; náusea, vómito, convulsiones.
- En perros se registró prolongación de QTcV
- En ratas se observó vacuolación renal

1.5 Guía para investigadores

25 En el momento de la preparación de este IB, el programa de estudios clínicos para el AZD0328 no había empezado, así que no hay datos clínicos disponibles actualmente.

Los estudios no clínicos habían identificado vacuolación en el túbulo renal y estos forman la base de la determinación de los límites de exposición sistémica máximos en el hombre, esto es, 1500 nmol h/L y 600 nmol/L (AUC media y C_{max} media).

30 En conclusión, con la dosis de partida prevista al 0.03 mg/día, con respecto a la dosis NOAEL observada (2.2 mg/kg) para vacuolación del túbulo renal se juzga que el AZD0328 puede ser administrado a un hombre en ensayos clínicos cuidadosamente monitoreados.

2. Introducción

2.1 Descripción de fármaco e indicación propuesta

35 Se espera que el AZD0328 provea alivio sintomático de la pérdida de memoria y déficits cognitivos observados en pacientes con AD y/o provea un adjunto a terapias antipsicóticas actuales para mejorar déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia por enlazamiento de los receptores de α₇ localizados en circuitos cerebrales afectados tanto en AD como en CDS incluyendo el hipocampo, el córtex frontal y el área tegumentosa ventral (VTA).

2.2 Propósito de esta solicitud

40 Este IB está previsto para facilitar el entendimiento del AZD0328 y presenta información sobre las propiedades químicas y físicas de la formulación del fármaco (Sección 3), información no clínica (Sección 4).

En el momento de la preparación del IB, el programa clínico para el AZD0328 no ha comenzado y por lo tanto no hay datos clínicos disponibles actualmente, sin embargo, se proveen guías para el investigador en la Sección 0.

2.3 Antecedentes y razones para el desarrollo de AZD0328

La enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa invariablemente fatal caracterizada por la disminución progresiva de las habilidades de aprendizaje, reconocimiento de objetos, desorientación y declinación de la función del lenguaje. La neurodegeneración en pacientes con AD está caracterizada por la pérdida progresiva de neuronas en el lóbulo frontal basal que sintetizan y liberan el neurotransmisor acetilcolina. El tratamiento con inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChEI), la cual termina la neurotransmisión colinérgica por hidrólisis de la acetilcolina, ofrece a los pacientes de AD una mejora sintomática modesta en función cognitiva, más probablemente facilitando la neurotransmisión colinérgica remanente. Hay una gran necesidad médica por fármacos con efecto sintomático mejorado y más sostenido y tolerabilidad mejorada sobre los fármacos AChEI. Tales medicinas mejorarán la calidad de vida y reducirán la carga para los profesionales de la salud. Se ha postulado ampliamente que los agonistas de acción directa de diversos receptores colinérgicos, incluyendo el subtipo de α_7 de los receptores de acetilcolina nicotínica, al restaurar la señalización del receptor colinérgico perdida, representan agentes terapéuticos potenciales atractivos superiores a AChEI.

Los déficits cognitivos (disminución de la memoria de trabajo, planeación, atención, etc.) son primariamente síntomas de esquizofrenia. El estatus cognitivo, los síntomas no positivos (alucinaciones, delirios, pensamiento desordenado, hostilidad) o síntomas negativos (afecto descortés, retiro social, pobre entendimiento), se correlacionan con el resultado funcional. Todos los fármacos antipsicóticos típicos y atípicos disponibles actualmente dejan a los pacientes cognitivamente disminuidos a pesar del control efectivo de los síntomas positivos. Los estudios clínicos y preclínicos han demostrado que los déficits cognitivos en esquizofrenia (CDS) están asociados consistentemente con la disfunción del córtex prefrontal dorsolateral (dIPFC). La disfunción en la neurotransmisión de GABA, glutamato y dopamina en el PFC representa la hipótesis mecanística de guía de la disfunción cortical y la disminución cognitiva en la esquizofrenia. La activación de la neurotransmisión de glutamato, GABA y dopaminérgica para influir en la plasticidad en sinapsis de PFC que conforma la actividad de red que subsirve los dominios cognitivos disminuidos en la esquizofrenia puede normalizar la función de dIPFC en pacientes esquizofrénicos normalizando por lo tanto el desempeño de las tareas cognitivas, mejorando la función cognitiva global y potenciando la reintegración social de estos pacientes.

El subtipo α_7 de receptores nicotínicos de acetilcolina (receptor de α_7) son canales de iones con compuerta de ligandos implicados en la modulación del heterorreceptor sináptico de sistemas neurotransmisores principales, plasticidad sináptica y aprendizaje y memoria. El AZD0328 es un agonista del receptor α_7 selectivo, potente que modula la neurotransmisión de hipocampo y cortical de GABA, de glutamato y dopaminérgica, facilita la plasticidad sináptica y mejora el desempeño de tareas cognitivas en modelos animales múltiples.

3. Propiedades físicas, químicas y farmacéuticas y formulaciones

3.1 Sustancia fármaco

La sustancia fármaco de AZD0328 es un enantiómero estereoquímicamente puro (la configuración es R). La sustancia fármaco se presenta como la sal de D-tartrato monohidratada, de aquí en adelante denominada como tartrato de AZD0328. Una forma cristalina del tartrato de AZD0328 ha sido manufacturada hasta la fecha con un punto de fusión de aproximadamente 198°C.

La solubilidad en equilibrio del Tartrato de AZD0328 en medio acuoso es superior a 25 mg/ml (equivalente en base libre) a lo largo del rango de pH fisiológico, en agua y en solución salina.

3.2 Producto fármaco

El producto fármaco se presenta como un polvo de AZD0328 para solución oral para constitución y dilución. El Tartrato de AZD0328 se suministra como un polvo en botellas de vidrio ámbar. El producto fármaco será constituido en una solución utilizando solución de cloruro de sodio para inyección, 9 mg/ml. Una dilución adicional con cloruro de sodio para inyección permitirá una flexibilidad en la dosificación puesto que se han dirigido rangos de dosis de 10 μ g a 2 mg (equivalente en base libre) para estudios clínicos iniciales. Se usará un vehículo de constitución salina para el producto placebo.

3.2.1 Condiciones de almacenamiento

El producto fármaco debería ser almacenado y usado de acuerdo con las instrucciones en la etiqueta.

4. Estudios no clínicos

4.1 Farmacología no clínica

Esta sección resume las propiedades farmacodinámicas y el perfil de farmacológica de seguridad del AZD0328. En la Tabla 1, Tabla 2 y Tabla 3 pueden encontrarse detalles de cada estudio.

4.1.1 Estudios farmacodinámicos primarios (in vitro)

- 5 En membranas preparadas bien sea a partir de células del riñón embrionarias humanas (α_7 -HEK), que expresan el receptor de α_7 humano recombinante o de hipocampo del cerebro de rata, el AZD0328 compitió con el enlazamiento de una forma yodada de la toxina de serpiente antagonista del receptor α_7 selectiva, de alta afinidad, [125 I]- α -bungarotoxina (BTX) (Tabla 1). En el *Xenopus* oocytes inyectado con el ARNm del receptor de α_7 recombinante, humano, el AZD0328 activa las corrientes celulares enteras (Tabla 2). Consistente con la utilidad como modulador heterorreceptor de la liberación del neurotransmisor sináptico, la corriente celular de células enteras evocada por AZD0328 en células α_7 -HEK- exhibió una cinética de activación comparable a la de las corrientes de células enteras evocadas por la acetilcolina. En interneuronas de hipocampo de rata agudamente disociadas, el AZD0328 dispara una corriente de célula entera desensibilizante, rápidamente activada (Tabla 1), consistente con las propiedades conocidas de los receptores de α_7 neuronales de ratas. En esta preparación, el AZD0328 activó corrientes de amplitud similar a las activadas por la acetilcolina, sugiriendo que es un agonista completo de los receptores de α_7 de cerebro de rata. El AZD0328 modula la función sináptica, consistente con el papel bien conocido de los receptores de α_7 como moduladores heterorreceptores de la función glutamatergica y GABAérgica.
- 10 En varias de estas preparaciones in vitro e in situ, las respuestas activadas por AZD0328 fueron bloqueadas por concentraciones nanomolares de los antagonistas BTX del receptor de α_7 o metillicaonitina.
- 15

Tabla 1 Caracterización farmacológica de AZD0328 in vitro e in situ

Sistema	Especie de α_7	medición	parámetro	resultado	unidad	Conc (μ M)	Número de estudio
α_7 -HEK	Humano recombinante	Enlazamiento a BTX	K_i	3.0	nM	NA	AZD0328-1
Membranas a HC	Rata	Enlazamiento a BTX	K_i	4.7	nM	NA	AZD0328-1
α_7 -HEK	Humano recombinante	Enlazamiento a b AZ	K_i	6.4	nM	NA	AZD0328-21
oocito	Humano recombinante	Corriente de célula entera	EC_{50}	1.9	μ M	NA	AZD0328-3
oocito	Humano recombinante	Corriente de célula entera	Respuesta máxima	70	c%IA	10	AZD0328-3
oocito	Rata recombinante	Corriente de célula entera	EC_{50}	1.1	μ M	NA	AZD0328-3
oocito	Rata recombinante	Corriente de célula entera	Respuesta máxima	87	%IA	10	AZD0328-3
oocito	Ratón recombinante	Corriente de célula entera	EC_{50}	1.0	μ M	NA	AZD0328-3
oocito	Ratón recombinante	Corriente de célula entera	Respuesta máxima	83	%IA	10	AZD0328-3
α_7 -HEK	Humano recombinante	Corriente de célula entera	$^{a10-90\%}$ tiempo de elevación	1.5	ms	NA	AZD0328-5
Neurona HC	Rata	Corriente de célula entera	EC_{50}	0.4	μ M	NA	AZD0328-10
Neurona HC	Rata	Corriente de célula entera	Respuesta máxima	97	%IA	NA	AZD0328-10
Corte HC	Rata	fEPSP	PPF	121	f% control P2:P1	5	AZD0328-8
Corte HC	Rata	GABA sIPSC	Frecuencia	251	%línea base	5	AZD0328-8
Corte FFX HC	Rata	fEPSP	LTP	153	%línea base	10	AZD0328-6

(continuación)

Sistema	Especie de α_7	medición	parámetro	resultado	unidad	Conc (μM)	Número de estudio
Corte HC	titi	fEPSP	PPF	123	%control P2:P1	5	AZD0328-9
Corte ⁹ PFC	Rata	Frecuencia GABA sIPSC	Ec ₅₀	0.7	μM	NA	AZD0328-8
Corte PFC	Rata	Frecuencia GABA sIPSC	Respuesta máxima	330	%línea base	NA	AD0328-8

^a HC- de hipocampo^b [3H]-AZ11637326, véase texto para propiedades detalladas^c % de IA – porcentaje de actividad intrínseca, el pico de respuesta máxima a AZD0328 como porcentaje de la respuesta máxima a la acetilcolina agonista endógena completa^d 10-90% de tiempo de elevación – una medida de la velocidad de activación de las corrientes de célula completa por el AZD0328^f % de control P2:P1 – el cambio porcentual en la relación de la amplitud de fEPSPs registrado en respuesta a dos estímulos aplicados rápidamente⁹ PFC - córtex prefrontal

4.1.2 Farmacodinámica secundaria

- 5 Los efectos secundarios del AZD0328 en objetivos diferentes al receptor de acetilcolina nicotínico de α_7 (nAChR) fueron investigados in vitro. Se probó la selectividad contra un amplio panel de 129 receptores, canales iónicos, receptores de hormonas nucleares, transportadores y enzimas utilizando pruebas de enlazamiento de radioligandos (Reporte No. GPW003). A 10 μM el AZD0328 desplegó > 50% de inhibición de enlazamiento de radioligandos específicos en receptores nicotínico central, serotoninérgico 5-HT₃, adrenérgico α_{2B} , y muscarínicos M₃ y M₅. En ensayos funcionales el AZD0328 exhibe poca o ninguna selectividad sobre receptores de 5-HT₃. Así en términos de potencia funcional en receptores humanos recombinantes in vitro, el AZD0328 parece ser equipotente a los receptores humano recombinante α_7 y 5-HT_{3A/B} y ser 14 veces selectivo 5-HT_{3A}> α_7 .
- 10

4.1.3 Estudios de farmacodinámica primaria (In vivo)

- 15 El AZD0328 es activo en nueve pruebas farmacológicas primarias en tres especies en dosis diversas administradas por múltiples rutas de administración (Tabla 2).

Ocupación del receptor

- 20 El AZD0328 ocupó los receptores de α_7 de cerebro de rata Sprague Dawley e incrementó el número de sitios de enlazamiento del receptor de α_7 in vivo (Tabla 2). A través del rango de dosis que ocuparon los receptores de α_7 de cerebro de rata, el AZD0328 también estimuló la neurotransmisión dopaminérgica. El AZD0328 provocó un incremento rápido y significativo en la velocidad de arranque espontáneo de neuronas dopaminérgicas putativas en el VTA de ratas Sprague Dawley anestesiadas, en comparación con la velocidad de arranque medida en ratas con administración de vehículo.

Reconocimiento de objetos novedosos

- 25 El AZD0328 incrementó el reconocimiento de objetos novedosos en ratones (Tabla 2). En este procedimiento, los ratones fueron habituados a una cámara en la cual se les permitía "muestrear" dos objetos antes de ser retirados de la cámara. Después de un retardo durante el cual uno de los objetos fue reemplazado con un objeto novedoso, los

5 ratones fueron regresados a la cámara para la prueba. Si el retardo era breve, el ratón gastaba más tiempo explorando el objeto novedoso que el objeto familiar, lo que se cree que indica que el ratón "reconoce" que el objeto novedoso es novedoso. Bajo estas condiciones, los ratones a los cuales se administró AZD0328 sc antes de muestrear los objetos exhibieron un índice de reconocimiento de objetos más alto que los ratones que recibieron la administración de vehículo. 0.00178 mg/kg sc de AZD0328 incrementó significativamente el índice de reconocimiento del objeto cuando se administra a e incluyendo 48 horas antes del muestreo de los objetos.

Recompensa retardada de alimento a respuesta operativa

10 El AZD0328 facilita la adquisición en ratas de respuesta operativa para una recompensa en alimento retardada (Tabla 2). En este procedimiento, se colocaron ratas sin conocimiento de la tarea, con restricción de alimento en una cámara durante la noche donde podrían presionar una barra (respuesta) para recibir una pella de alimento (recompensa) después de un retardo. Cuando había un retardo entre la respuesta y la recompensa que hacia disminuir la respuesta, las ratas con administración de AZD0328 sc inmediatamente antes de ser colocadas en la cámara respondían más frecuentemente que las ratas con administración de vehículo.

No correspondencia a la posición, retardada

15 El AZD0328 reversó el desempeño disminuido de una tarea de posicionamiento no coincidente, retardada (DNMTP) en ratas con transección de fimbria-fornix (FFX) (Tabla 2). La transección de fimbria-fornix secciona los axones de las neuronas del lóbulo frontal basal que inervan el hipocampo; la DNMTP es una tarea dependiente del hipocampo. Ratas intactas y FFX reciben administración del vehículo o del AZD0328 dos veces al día y se probaron en DNMTP durante 21 días consecutivos. Las ratas FFX exhibieron una AUC (área bajo la curva) más baja que las ratas intactas, indicando que cometieron más errores. El AZD0328 incrementa la AUC de ratas FFX por encima de las ratas FFX que recibieron administración de vehículo.

Potenciación del hipocampo a largo plazo

25 El AZD0328 reversa un déficit en la potenciación a largo plazo del hipocampo (LTP) en ratas FFX Sprague Dawley (Tabla 2). Las ratas FFX exhibieron un déficit en el LTP del hipocampo medido in vivo en forma de un incremento reducido en la pendiente del potencial postsináptico excitador (EPSP) después de estímulos a alta frecuencia de las sinapsis colateral de Schaffer/CA1. Consistente con las observaciones en la preparación de secciones de hipocampo, el AZD0328, administrado sc incrementó la pendiente de EPSP en ratas FFX después de estimulación a alta frecuencia en comparación con la pendiente de EPSP medida en ratas FFX que exhibieron LTP después de la administración del vehículo. En esta prueba 0.3 mg/kg de AZD0328 fueron no efectivos.

30 Respuesta espacial retardada

35 Un mono rhesus fue entrenado en una tarea de respuesta espacial retardada. Dosis medias de AZD0328 (0.0016 y 0,00048 mg/kg im) evocaron una mejora sostenida en el desempeño del mono rhesus, mientras que una dosis más alta (0.48 mg/kg) y una dosis más baja (0.000016 mg/kg) disminuyeron de manera transiente el desempeño de la tarea (Tabla 2). La administración intramuscular de dosis medias de AZD0328 incrementó significativamente el porcentaje de respuestas correctas en comparación con los monos que recibieron administración de vehículo. Cuatro de nueve monos que exhibieron un desempeño mejorado en comparación con su propio desempeño de línea base después de recibir una dosis individual de AZD0328 a dosis medias continuaron exhibiendo desempeño mejorado por más de un mes antes de retornar eventualmente al desempeño de línea base.

40 Los efectos laterales de CNS y el desempeño en la memoria de trabajo espacial disminuidos se presentaron solamente juntos en monos que recibieron la administración de alta dosis de AZD0328. El NOAEL para el desempeño de la memoria de trabajo espacial disminuida y movimientos orales en monos rhesus fue determinado en 0.016 mg/kg. Las dosis proyectadas para producir beneficios terapéuticos en sujetos humanos son aquellas dosis que fueron efectivas en ensayos funcionales en las tres especies y estuvieron por debajo del NOAEL para efectos adversos en la función cognitiva y en el comportamiento general en monos rhesus (<0.016 mg/kg). Las dosis proyectadas para producir beneficios terapéuticos en sujetos humanos por lo tanto caen en el rango de 0.0001-0.01 mg/kg.

Tabla 2 Dosis de AZD0328 que fueron activas en pruebas farmacológicas in vivo

Prueba	Especie	Ruta	Dosis (mg/kg)	^a Tiempo (h)	Número de estudio
Efectos laterales CNS	Mono rhesus	Im	0.48, 0.0000016	0-0.5	AZD0328-11
Respuesta retardada espacial (SDR)- respuestas correctas disminuidas	Mono rhesus	Im	0.48, ^b 0.0016, ^b 0.00048, 0.000016	0.5-0.75	AZD0328-11
Adquisición operativa – respuesta incrementada	Rata	Sc	^b 0.00, ^b 0.003, ^b 0.01, 0.03, 0.06, 0.6, 1.8	0-14	AZD0328-12
Reconocimiento de objeto novedoso (NOR) – índice incrementado	Ratón	Sc	^b 0.00178, 0.089, 1.78	0.5-0.65	AZD0328-13 AZD0328-20
Enlazamiento del receptor [³ H]-AZ11637326 in vivo (incrementado)	Rata	Sc	0.0001, 0.001, 0.01, 0.3, 1	0.5-1.5	AZD03287-1 AZD0328-21
Microdiálisis de dopamina cortical – concentración incrementada	Rata	Sc	^b 0.00183, 0.0183, 0.51, 5.13	0-4	AZD0328-15 AZD0328-16
^b Quema neuronal por dopamina de área tegumentosa ventral – incrementada	Rata	Iv	0.00138	0.17-0.5	AZD0328-14
^b [¹²⁵ I]-α-bungarotoxina que enlaza número de receptor incrementado ex vivo	Rata	Sc	0.0001	2-4	AZD0328-18
LTP de hipocampo – incrementado	Rata	Sc	1,3	0.5-1	AZD0328-7
AUC incrementado por DNMT1P	Rata	Sc	1,3	0.5-1	AZD0328-19

^a Tiempo después de la administración del fármaco durante el cual se hicieron las mediciones

^b Dosis utilizadas para estimar la dosis objetivo para eficacia en sujetos humanos

4.1.4 Farmacología de seguridad

- 5 Esta sección resume los estudios de farmacología de seguridad no clínicos de AZD0328 llevados a cabo en ratas, cobayas, conejos y perros. Estos estudios han examinado el potencial para efectos CNS, cardiovasculares, respiratorios, gastrointestinales y renales del AZD0328. También se evaluó el potencial por propensión al abuso. Los detalles de cada estudio pueden encontrarse en la Tabla 3.

4.1.4.1 Sistema Nervioso Central

10 Selección de Irwin en la rata

- 15 Los efectos del AZD0328 fueron establecidos en la selección de Irwin modificada, una batería de protocolo de calificación de toxicidad neurológica y abierta diseñada para detectar un amplio rango de efectos colaterales (Tabla 3). Los hallazgos de la selección de Irwin sirven como una indicación general de efectos mediados por CNS. Las ocasiones de comportamiento nervioso y fuerza de agarre reducida se observaron en dosis hasta 64.9 mg/kg, pero estos efectos se consideraron moderados y no limitantes de la dosis. No se vieron efectos significativos en el peso

corporal o el tamaño de la pupila en cualquier dosis. En conclusión el NOAEL del AZD0328 en la selección de Irwin se determinó en 64.9 mg/kg.

Actividad locomotora espontánea en ratas

5 El AZD0328 fue investigado en cuanto a posibles efectos sobre actividad locomotora espontánea en ratas (n= 6/grupo) (Tabla 3). Los animales fueron colocados individualmente en cajas de actividad locomotora para una sesión de prueba de 90 minutos. Los movimientos dentro de la caja fueron medidos por rayos infrarrojo, y la actividad se estableció como recuentos ambulatorios, recuentos estereotípicos, recuentos verticales y tiempo de descanso.

No hubo efecto del AZD0328 sobre ningún parámetro en dosis hasta 129.8 mg/kg.

Efectos sobre ataques inducidos por pentilentetrazol en la rata

10 Se definió en el AZD0328 su capacidad para influir el umbral de convulsiones clónicas causadas por una infusión intravenosa de pentilentetrazol (PTZ) en ratas (Tabla 3). El AZD0328 a dosis de hasta 64.9 mg/kg no tuvo efectos significativos sobre el nivel de umbral, mientras que a 129.8 mg/kg el AZD0328 disminuía significativamente el umbral para convulsiones inducidas por PTZ en un 20% (164 μ mol/kg de PTZ). Esto indica que el AZD0328 exhibe actividad proconvulsiva en la dosis más alta, y el NOAEL, por lo tanto, se determinó en 64.9 mg/kg.

15 Discriminación de fármacos nicotínicos en ratas

El AZD0328 fue probado en cuanto a su potencial para producir efectos de estímulos similares a la nicotina después de administración subcutánea en un procedimiento de discriminación de fármacos (Tabla 3). El estudio fue llevado a cabo en ratas (n= 6) entrenadas para discriminar 0.3 mg/kg (1.9 μ mol/kg) de nicotina del vehículo administrado por inyecciones subcutáneas. Los efectos discriminadores similares a la nicotina en ratas han demostrado estar muy bien correlacionados con los efectos discriminativos de la nicotina en primates y humanos y se utilizan para predecir hasta qué grado se puede esperar que un compuesto produzca efectos psicoactivos similares a la nicotina en humanos. Las ratas de respuesta no fueron afectadas significativamente por la nicotina. El AZD0328, en dosis de hasta 30 mg/kg, disminuyó severamente la velocidad de respuesta, indicando así dosis suficientes para la estimulación de CNS. Sin embargo, los animales no reconocieron el AZD0328 como una huella de nicotina a ninguna dosis probada, demostrando la carencia de propiedades de estímulos similares a la nicotina en ratas, y sugiriendo que tales efectos no están predichos en humanos.

Potencial de reforzamiento en mono rhesus después de inyección intravenosa

El potencial de responsabilidad ante el abuso del AZD0328 se investigó en 6 monos rhesus (1 macho y 5 hembras) a través de un procedimiento de autoadministración (Tabla 3). El compuesto fue comparado con cocaína y solución salina en cuanto a su capacidad para mantener la administración intravenosa en el mono bajo una programación de infusión de fármaco inducida por una prensa de palanca. No hubo autoadministración de ninguna dosis de AZD0328 a un nivel superior a la solución salina (rango 0.2-1.7 infusiones por sesión), indicando que el AZD0328 no despliega propiedades de reforzo. El C_{max} medio total del AZD0328 a la dosis alta fue de 36.2 \pm 30.3 μ M, lo cual sugiere que el AZD0328 probablemente no tenga una alta responsabilidad en cuanto al abuso en concentraciones de plasma totales hasta de 36 μ M.

Efectos de comportamiento en monos

Antes de probar sus efectos sobre el desempeño de tareas cognitivas en monos títi, se estableció la tolerabilidad del AZD0328. (Tabla 3). Los comportamientos notados en títi individuales durante los cinco minutos inmediatamente después de la administración de fármaco fueron salivación, vómito, rasquiña, defecación y actividad incrementada. Estas observaciones no fueron analizadas cuantitativamente, y sugirieron que el AZD0328 era suficientemente bien tolerado en títi para garantizar un establecimiento de afectos sobre un desempeño de tareas cognitivas comenzando veinte minutos después de la administración del fármaco, cuando estos comportamientos no eran más evidentes.

4.1.4.2 Sistema cardiovascular (in vitro)

45 Efectos sobre el canal hERG

Se llevó a cabo un estudio para evaluar los efectos del AZD0328 en la subunidad α del canal de potasio dependiente del voltaje codificado por el gen humano relacionado con éter -a-go-go (hERG), utilizando la técnica de fijación de membranas (Tabla 3). Los resultados mostraron que el AZD0328 bloqueó el canal de potasio codificado por hERG como un valor de IC_{50} estimado de 32 μ M.

50 Efectos sobre fibras de Purkinje cardiacas aisladas de perro

Los efectos del AZD0328 sobre los potenciales de acción cardíaca fueron establecidos en 4 preparaciones de fibras Purkinje de perro. (Tabla 3). Los siguientes parámetros de potencial de acción fueron medidos en las frecuencias de estimulación de 0.5 y 1 Hz: duración del potencial de acción a 50% (APD₅₀), 70% (APD₇₀) y 90% (APD₉₀) de repolarización; la velocidad máxima del trazo ascendente de potencial de acción ($V_{m\acute{a}x}$); la amplitud de potencial de acción (APA) y el potencial de membrana en reposo (RMP). En ambas frecuencias de estimulación, el AZD0328 produjo una prolongación dependiente de la concentración de APD₅₀, APD₇₀ y APD₉₀, con efectos significativos a 5.6 μ M y superiores. También hubo una indicación de potencial proarrítmico del compuesto. Un incremento del 10% en APD₉₀ en la fibra de Purkinje aislada de perro se ve en concentraciones entre 5.6 y 16.8 μ M.

Efectos proarrítmicos en corazón de conejo perfusionado aislado

Las propiedades proarrítmicas del AZD0328 fueron investigadas en 6 corazones de conejo hembra perfusionados aislados de acuerdo con el modelo de Hondeghem (Tabla 3). Se estudiaron los efectos del AZD0328 sobre la duración del potencial de acción a 60% de repolarización (APD₆₀), y triangulación, dependencia e inestabilidad de uso reverso (T, R, I) del potencial de acción. También surge una "bandera" cuando T, R o I alcanzan un nivel umbral crítico por debajo del cual se considera seguro, y el número total de banderas estaba presente como incremento en porcentaje de banderas. El parámetro del % de banderas se considera como la medida más sensible de proarritmia en este modelo in vitro, con un umbral para causa de preocupación a 2.5%. El % de banderas se incrementó de manera dependiente de la concentración por encima del umbral a 9 y 30 μ M. Aunque estaban presentes los elementos TRLad, no hubo signos manifiestos de proarritmia tales como despolarizaciones anteriores-posteriores (EADs), Torsade de Pointes, o fibrilación ventricular. En este estudio ningún nivel de efectos adverso (NOAEL) de AZD0328 para señales arrítmicas fue de 3 μ M.

4.1.4.3 Sistema Cardiovascular (In vivo)

Repolarización cardíaca en cobayas anestesiadas

Los efectos del AZD0328 sobre repolarización ventricular y conducción intracardiaca fueron investigados en 6 cobayas anestesiadas y ventiladas (Tabla 3). Para la caracterización electrofisiológica, se registraron la duración de la potencia de acción monofásica MAP a 90% de repolarización (MAPD₉₀), la velocidad de conducción ventricular (tiempo de surgimiento de MAP) y el tiempo de conducción atrioventricular (AV) durante el ritmo cardíaco. El AZD0328 tuvo efectos dependientes de la dosis sobre las actividades electrofisiológicas en el corazón de la cobaya. A la dosis más alta, que da como resultado una concentración total en plasma de 8.5 μ M, el MAPD₉₀ y el tiempo de conducción AV fueron prolongados en un 20% y 13%, respectivamente. Se concluye que el AZD0328 retarda la repolarización ventricular en la cobaya anestesiada en un 10% a una concentración total en plasma de 2.4 μ M.

Efectos cardiovasculares en la rata

Los efectos de dosis individuales orales de AZD0328 sobre presiones sanguíneas arteriales medias, sistólica y diastólica, ritmo cardíaco, temperatura del cuerpo, actividad locomotora y parámetros respiratorios se evaluaron en ratas combinando la pletismografía del cuerpo completo con telemetría (Tabla 3). No se observaron cambios significativos en la temperatura corporal o en la actividad locomotora a ningún nivel de dosis. El grado de hipertensión, sin embargo, era similar en las dosis 3 veces más altas, lo cual podría ser explicado por la alta variación individual en exposición en plasma a cada dosis individual. El efecto sobre el ritmo cardíaco, por otro lado, estuvo relacionado con la dosis. En conclusión, el NOAEL (efecto <10%) después de la administración oral del AZD0328 en la función cardiovascular en ratas se determinó en 0.5 μ M (total).

40 Efectos cardiovasculares en el perro

Los efectos cardiovasculares del AZD0328 administrado oralmente fueron establecidos en perros implantados con transmisores de telemetría (Tabla 3). El propósito principal del estudio era evaluar los efectos sobre el intervalo QT del ECG durante un periodo de dosificación de 7 días seguido por 5 días de recuperación, permitiendo así el establecimiento de cualquier acumulación de efectos y la recuperación hacia la línea base. La presión sanguínea arterial sistólica, diastólica y media, el ritmo cardíaco, un ECG de 11 derivaciones y la temperatura central del cuerpo fueron registrados de manera continua. Se midieron el PR, QRS y los intervalos QT del ECG, y se corrigió el intervalo QT para cambios en ritmo cardíaco utilizando el método de Van de Water (QTcV). Además, los perros fueron observados en cuanto a señales clínicas y de comportamiento.

La administración del AZD0328 no tuvo efecto sobre la temperatura corporal, PR o intervalo de QRS a ningún nivel de dosis sobre los regímenes de dosificación de 7 o 1 día. En conclusión, las prolongaciones dependientes tanto de la dosis como dependientes del tiempo del intervalo QTcV fueron vistas después de la administración del AZD0328, y ninguna dosis estaba libre de los efectos. También, se observó vómito frecuente después de las dosis individuales de 17.3 y 34.6 mg/kg. Así, no se pudo establecer el NOAEL para el AZD0328 en estos perros, y un incremento en QTcV de más de 10% fue visto incluso al $C_{m\acute{a}x}$ total más bajo de 0.8 μ M.

55 4.1.4.4 Sistema respiratorio

Efectos respiratorios en la rata

Se evaluaron los efectos del AZD0328 en la función respiratoria en un estudio combinado cardiovascular/respiratorio en ratas (Tabla 3). El ritmo respiratorio, el volumen de marea, los tiempos de inspiración y espiración, y los flujos pico de inspiración y espiración fueron medidos antes de la dosificación.

- 5 No se observaron cambios significativos en gases en la sangre arterial en los animales satélite en ningún nivel de dosis o en ningún momento. El NOAEL después de la administración oral del AZD0328 en la función ventiladora en ratas se determinó en 31.2 µM.

4.1.4.5 Función renal

Función renal en la rata

- 10 Se utilizaron ratas conscientes (n= 9/grupo) colocadas en jaulas de metabolismo para investigar si el AZD0328 tenía algún efecto sobre la excreción renal de agua y electrolitos (Tabla 3). La administración oral del AZD0328 no tuvo efecto alguno en ninguno de los parámetros medidos en comparación con animales tratados con vehículo. Así, no se encontraron efectos adversos sobre la función renal en ratas a dosis hasta de 50 mg/kg.

4.1.4.6 Función gastrointestinal

- 15 Función intestinal en la rata

Los efectos del AZD0328 sobre la motilidad del intestino delgado y colorrectal fueron investigados en ratas utilizando la prueba de carne con carbón y la prueba de perla de vidrio, respectivamente (Tabla 3). En la primera parte, evaluando el tránsito intestinal, se administró una comida de prueba que contiene carbón como marcador no absorbible a las ratas. En la segunda parte, se evaluaron los efectos de la administración oral de AZD0328 sobre el tiempo de tránsito colorrectal.

20 El AZD0328 demostró significativamente una inhibición dependiente de la dosis de la motilidad intestinal en la rata por el AZD0328 a dosis orales de 28.1 mg/kg y superiores. Por lo tanto, el NOAEL de la motilidad intestinal en este estudio se determinó en 5.6 mg/kg.

Potencial emético en hurones

- 25 El potencial emético del AZD0328 fue investigado en hurones (n= 6-8/dosis) después de una dosis oral individual de vehículo o AZD0328 (Tabla 3). Se utilizaron grabaciones en cinta de vídeo para la observación de los animales hasta 4 horas después de la dosis para cuantificación y temporización de los comportamientos eméticos, caracterizado como arcadas (contracciones abdominales), vómitos y "sacudida de perro mojado".

- 30 El AZD0328 produce arcadas, vómitos y "sacudidas de perro mojado" en todas las dosis, aunque se obtuvo solamente una diferencia estadísticamente significativa para el tratamiento con vehículo para las arcadas a 5.6 mg/kg. Así, las respuestas eméticas estuvieron presentes en todas las dosis pero que no se consideran como relacionadas con la dosis.

Tabla 3 Resumen de estudios de farmacología de seguridad

Sistemas de órganos evaluados	Especie/Cepa	Método de administración	Dosis ^a (mg/kg)	Hallazgos notables	Número de estudio
Canal de hERG	Células HEK	In vitro	1, 3, 10, 30 y 100 µM	Bloque de corriente de cola de hERG con un IC ₅₀ estimado de 32 µM	TSZ67
Fibra de Purkinje	Perro/Beagle	In vitro	0.56, 5.6, 16.8 y 56 µM	Dependencia de uso reverso y 10% de incremento en la duración del potencial de acción cardíaco entre 5.6 y 16.9 µM.	0181SD
Corazón aislado	Conejo/NZW	In vitro	0.3, 0.9, 3, 9 y 30 µM	Señales arrítmicas a 9 µM y superiores.	0083SB
CNS/Irwin	Rata/Wistar	Ingesta oral	0, 10.8, 32.4, 64.9 o 129.8	Se observó sedación después de 129.8 mg/kg hasta 4 horas postdosis. Ningún efecto a 64.9 mg/kg.	SP-SPG-0418
CNS/Irwin	Rata/Wistar	Ingesta oral	0, 129.8, 194.7 o 259.5	Sedación, respuesta reducida atracción, lacrimación y salivación a 194.7 mg/kg. A 259.5 mg/kg 1 de 6 animales murieron.	SP-D0190-SPG-0522
CNS/Actividad locomotora	Rata/Wistar	Ingesta oral	0, 32.4, 64.9 o 129.8	Ningún efecto sobre la actividad locomotora hasta 129.8 mg/kg	SP-SPG-0440
CNS/Proconvulsivo	Rata/Wistar	Ingesta oral	0, 21.6, 64.9 or 129.8	Reducción del umbral de ataque inducido por pentilentetrazol en 20% a la dosis más alta. No hubo efectos a 64.9 mg/kg.	SP-SPG-0431
CNS/Discriminación fármaco	Rata/Wistar	sc	0, 1, 3, 10, 17.5 y 30	Carencia de propiedades de estímulo similares a la nicotina en dosis hasta de 5.9 mg/kg	SP-D0190-SPG-1734

(continuación)

Sistemas de órganos evaluados	Especie/Cepa	Método de administración	Dosis ^a (mg/kg)	Hallazgos notables	Número de estudio
CNS/Autoadministración	Mono/Rhesus	Infusión iv	0, 0.384, 1.15 y 3.84 mg/kg/infusión	No se observó efecto de refuerzo a ninguna dosis. C _{max} total en plasma 36.2 µM a la dosis más alta. En el estudio de hallazgo de dosis inicial, un mono que recibió 34.8 mg/kg como bolus iv murió en minutos.	03.330/4
CNS/Efectos de comportamiento	Mono/titi	Im	0.03-3	Un animal defecó después de 0.01 mg/kg de AZD0328. Todos los demás comportamientos (salivación, vómito, rasquiña, defecación y actividad incrementada) fueron observadas en los titíes después de la administración con 0.03-3 mg/kg de AZD0328, pero no después de la administración de vehículo	AZD0328-6
Repolarización cardíaca	Cobaya	iv. bolus acumulativo	0, 0.06, 0.22, 0.65, 2.16 y 6.49	Retardo dependiente de la dosis en la repolarización ventricular con 10% de efecto en la concentración total en plasma 2.4 µM	SP-D0190-SPG-0430
Cardiovascular/respiratorio	Rata/Wistar	Ingesta oral	0, 1.1, 32.4, 54.1 o 86.5	En ratas telemedidas BP y HR se incrementó hasta 6 horas después de la dosis. A la dosis más alta (C _{max} total de 31.2 µM), BP se incrementó en 15% y HR en 19%. Ningún efecto CV a 1.1 mg/kg (C _{max} total 0.5 µM). El registro de pletismografía de cuerpo completo no mostró efectos sobre la respiración hasta C _{max} total de 31.2 µM. Ningún efecto sobre la actividad locomotora o temperatura corporal en ninguna dosis.	20030191P CR

(continuación)

Sistemas de órganos evaluados	Especie/Cepa	Método de administración	Dosis ^a (mg/kg)	Hallazgos notables	Número de estudio
Cardiovascular/EKG	Perro/Beagle	Ingesta oral, campaña de 7 días	Dosis individuales de 5.4 en campaña, 17.3 o 34.6	Incremento dependiente de la dosis en QTc, con efectos > 10% en el grupo de dosis baja en el día 4 (C _{max} total de 1.5 µM) y día 7 (C _{max} total de 0.8 µM). Los grupos con dosis medias y altas terminaron después de la primera dosis debido a émesis severa. BP y/o HR se incrementaron en todas las dosis	0279ZD
Tránsito GI	Rata/Long-Evans	Ingesta oral	0, 2.8, 5.6, 28.1, 56.2 o 84.4	Inhibición dependiente de la dosis de la motilidad de intestino delgado y colorrectal desde 28.1 mg/kg. Ningún efecto a 5.6 mg/kg.	WG-01-75
GI respuesta emética	Hurón/Fitch	Ingesta oral	0, 5.6, 16.9 o 56.2	Respuestas eméticas en todas las dosis	WG-02-07
Renal	Rata/Long-Evans	Ingesta oral	0, 2, 10, 20 o 50	Ningún efecto sobre la función renal hasta 50 mg/kg.	WG-02-19
^a Dosis individual a menos que se especifique otra cosa					

4.1.4.7 Discusión y conclusiones con respecto a la farmacología primaria

Los estudios de farmacología primaria muestran que el AZD0328 es un agonista potente, de alta afinidad de los receptores de α_7 , y modula la transmisión sináptica de glutamato y GABA. El AZD0328 ocupa y sobrerregula los receptores de α_7 de rata, activa la neurotransmisión dopaminérgica mesocortical de rata, y evoca una mejora sostenida en el desempeño de tareas cognitivas después de la administración de dosis individuales o múltiples en ratones, ratas y monos. Estos efectos se observan en la ausencia de efectos colaterales aparentes en el rango de dosis de 0.0001-0.01 mg/kg. El NOAEL para el desempeño de la memoria de trabajo espacial disminuida y para efectos colaterales en CNS similares a estimulantes en los monos rhesus se determinó en 0.016 mg/kg.

Los estudios de farmacología de seguridad mostraron que el AZD0328 no induce ningún efecto adverso sobre la función del CNS en ratas a dosis orales de hasta 64.9 mg/kg (300 μ mol/kg).

Se demostró el potencial del AZD0328 para inhibir la repolarización cardíaca. Aunque no pudieron establecerse el NOAEL para la prolongación de QTc en el estudio de telemetría en perros, los datos homogéneos obtenidos en todos los ensayos de repolarización, incluyendo un NOAEL de 1 μ M en el ensayo de MAP en cobayas y un NOAEL de 0.9 μ M en el ensayo de corazón proarrítmico aislado, sugieren colectivamente que los efectos del AZD0328 sobre la repolarización cardíaca no se esperan a concentraciones en plasma en unidades logarítmicas por debajo de 1 μ M.

Dosis orales de AZD0328 indujeron hipertensión y taquicardia en ratas y perro telemidados consientes. En la rata, se observó un incremento en presión sanguínea y ritmo cardíaco > 10%. No hubo efectos del AZD0328 sobre ningún parámetro respiratorio en ratas.

El AZD0328 demostró causar efectos adversos sobre la función gastrointestinal. En el modelo de potencial emético de hurón, el AZD0328 produjo respuestas eméticas. Esto refleja probablemente la actividad agonística del AZD0328 en el receptor de 5-HT₃, bien conocido por su participación en los reflejos eméticos.

En conclusión, los resultados de los estudios de farmacología primarios y de seguridad muestran que los efectos estimulantes de CNS, efectos proconvulsivos, prolongación del intervalo de QTc, incrementos en la presión sanguínea y efectos gastrointestinales son los efectos adversos principales del AZD0328. Sin embargo, estos efectos no se consideran en riesgo en clínica debido a las grandes márgenes de seguridad contra el nivel en plasma terapéutico humano libre predicho de 0.5 a 1.7 nM.

4.2 Farmacocinética y metabolismo del fármaco en animales

Esta sección provee un resumen de las propiedades farmacocinéticas y de metabolismo del AZD0328 derivado de estudios in vivo. La exposición sistémica del AZD0328 fue demostrada en ratas, perros, hurones, minicerdos de Gottingen, conejos blancos de Nueva Zelanda, y mono rhesus. Los parámetros PK/TK derivados de estos estudios se presentan en la Tabla 4 para estudios con dosis individuales (DMR4, 0619LR, 20030191PCR, DMO16, DMB10, DMW12, 50190, 0190DD y 03.330/1) y se presentan en la Tabla 5 estudios de PK/TK de dosis múltiples (DMR4, 0612AR, DMB15, 50190, 0190DD y 0295AD).

4.2.1 Absorción

La absorción rápida del AZD0328 en los tractos gastrointestinales fue observada en todas las especies probadas, excepto en el minicerdo. En el estudio de balance de masas llevado a cabo en ratas alimentadas, se observó un T_{max} de 0.5 h a 1h después de dosis orales individuales y múltiples (solución). La biodisponibilidad del AZD0328 (radioactividad total) en este estudio fue > 90%. Estos resultados sugieren que el AZD0328 fue rápidamente y bien absorbido en la rata. La vida media de eliminación no estuvo bien caracterizada en las especies, pero se observó una vida media de eliminación menor de 5 horas con conejos y hurones. Hablando en general, la eliminación fue completa durante el intervalo de 24 horas a los niveles de dosis probados. Después de un mes del tratamiento, no se observó PK dependiente del tiempo o la dosis en perros. La diferencia de género en la exposición se observó en ratas a las dosis probadas (hembras > machos), pero esto no se observó en perros. Se demostró en ratas y conejos la exposición significativa del fluido cerebroespinal (CSF) y del cerebro.

Parámetros PK/TK para AZD0328 a partir de estudios de dosis individual										
Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis IV mg/kg (μmol/kg)	V _{ss} L/kg	CL L/h/kg	T _{1/2} h	Dosis oral mg/kg (μmol/kg)	C _{max} ng/mL (μM)	T _{max} h	AUC ng h/mL (μM h)	F %	T _{1/2} h
Rata/2F/0619L	NA	NA	NA	NA	149 (690)	4740-11600 (21.9-53.6)	NA	76600 (354)	NA	NA
Rata/3M/0619 LR	NA	NA	NA	NA	201 (930)	3440±567 (15.9±2.62)	NA	49750±7590 (230±35)	NA	NA
Rata/1M+1F/D MR4	1.08 (5)	NC	NC	NC	2.16 (10)	251-344 (1.16-1.59)	0.5-1	699-861 (3.23-3.98)	78-84	NC
Rata/4M/20030 191PCR	NA	NA	NA	NA	1.08 (5)	99.9±38.3 (0.462±0.177)	1	441±129(2.04 ±0.60)	NA	NC
Rata/4M/20030 191PCR	NA	NA	NA	NA	3204 (150)	2570±2230 (11.9±10.3)	1	26600±9650 (123±45)	NA	NC
Rata/4M/20030 191PCR	NA	NA	NA	NA	54.1 (250)	4500±1630 (20.8±7.5)	1	37900±6470 (175±30)	NA	NC
Rata/4M/20030 191PCR	NA	NA	NA	NA	86.5 (400)	6749±3740 (31.2±17.3)	1	90000±4330 (416±20)	NA	NC
Conejo/3F/D MB10 ⁿ	NA	NA	NA	NA	2.16 (10)	589±206 (2.72±0.95)	0.5-1.12	1750±933 (8.10±4.31)	NA	2.71 ±1.17
Conejo/3F/D MB10 ⁿ	NA	NA	NA	NA	6.49 (30)	1750±56 (33.9±6.7)	0.267-1.08	7340±1450 (33.9±6.7)	NA	4.56 ±1.36
Perro/2F+2M/0 190DD ^{df}	NA	NA	NA	NA	1.08(5)	19.2±9.8 (0.0890±0.0451)	1-3	68.1±28.1 (0.315±0.130)	NA	NC
Perro/2F+2M/0 190DD ^{cp}	NA	NA	NA	NA	1.08(5)	33.1 ±21.1 (0.153 ±0.097)	0.5	104±34(0.483 ±0.158)	NA	NC
Perro/2F+2M/0 190DD ^{cp}	NA	NA	NA	NA	1.08(5)	26.9±13.8 (0.124±0.064)	0.5-6	177±148 (0.818±0.686)	NA	NC
Perro/4M/0279 ZD	NA	NA	NA	NA	17.3(80)	NA	NA	2530±736 (11.7±3.4)	0.146±0.043	NA
Perro/4M/0279 ZD	NA	NA	NA	NA	34.6(160)	NA	NA	8280±3440 (38.3 ±15.9)	0.239 ±0.099	NA
Minicerdo/3M/ DMW12Y	8.5 (39.3)	11.1 ±4.2	2.13±0.19	3.71±1.72	16.9(78.1)	81.3±37.6 (0.376±0.174)	1-4	404±153 (1.87±0.71)	5.19±2.22	NC

(continuación)

Parámetros PK/TK para AZD0328 a partir de estudios de dosis individual											
Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis IV mg/kg (μmol/kg)	V _{ss} L/kg	CL L/h/kg	T _{1/2} h	Dosis oral mg/kg (μmol/kg)	C _{max} ng/mL (μM)	T _{max} h	AUC ng h/mL (μM h)	F %	T _{1/2} h	
Minicerdo/2M+ 2F/50190 ¹	NA	NA	NA	NA	73.1(338)	379±262 (1.75±1.21)	2-6	3140±2000 (14.5±9.31)	NA	NC	
Minicerdo/2M+ 2F/50190 ¹	NA	NA	NA	NA	563(2602)	1910±1700 (8.84±7.86)	12	18200±3960 (84.2±18.3)	NA	NC	
Hurón/4M/D MO16	NA	NA	NA	NA	10 (46)	590±392 (2.73±1.81)	0.25-1	4000±1140 (18.3±5.2)	NA	3.98 ±1.66	
Mono Rhesus/2M+ 2F/03.330/1	0.385 (1.78)	3.29±2.32	1.26±0.91	1.76±0 .43	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mono Rhesus/2M+ 2F/03.330/1	1.15 (5.32)	2.52±1.64	0.853 ±0.562	1.96 ±0.63	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mono Rhesus/2M+ 2F/03.330/1	3.85(17.8)	2.85±1.60	0.867 ±0.437	2.14 ±0.39	NA	NA	NA	NA	NA	NA	
Mono Rhesus/3M/ ATAGBU101 0 ¹	NA	NA	NA	NA	0.048 (0.22)	16.1 ±2.0 (74.6±9.2)	0.25	69 ±13 (14.8 ±2.8)*	NA	0.85 ± 0.23	

(continuación)

Parámetros PK/TK para AZD0328 a partir de estudios de dosis individual

Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis IV mg/kg (µmol/kg)	V _{ss} L/kg	CL L/h/kg	T _{1/2} h	Dosis oral mg/kg (µmol/kg)	C _{max} ng/mL (µM)	T _{max} h	AUC ng h/mL (µM h)	F %	T _{1/2} h
Mono rhesus/2F+2M/A7AGBU1 006 ^t	NA	NA	NA	NA	1.7(8)	430659 (1990 ±274)	0.25	634±81(2930 ±374)**	NA	0.97±0.12

α: La dosis fue dividida en partes iguales en dos con separación de 6 horas.

t: dosis intramuscular.

f: dosis en cápsula bajo condición de ayuno.

*: AUC (0-2h)

∅: Dosis en solución bajo condición de ayuno.

** : AUC (0-6h)

φ: Dosis en cápsulas bajo condición de alimentación.

NC: No calculado.

γ: Dosis en solución bajo condición de alimentación.

NA: No disponible.

η: Dosis subcutánea.

ES 2 424 627 T3

Tabla 5 Parámetros de PK/TK para AZD0328 a partir de estudios con dosis múltiple

Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis mg/kg (μmol/kg)	Día de Tratamiento	T _{max} h	C _{max} ng/ML (μM)	AUC ng h/mL (μM h)	AUC/dosis
Rata/1F+1M/DMR4	2.16(10)	1	0.5-1	251-344 (1.16-1.59)	699-861 (3.23-3.98)	0.323-0.398
Rata/1F+1M/DMR4	2.16(10)	7	0.5	212-324 (0.981-1.50)	599-857 (2.77-3.96)	0.277-0.396
Rata/4M/0612AR	2.16(10)	1	1	189±42 (1.50 ±0.33)	528±78 (4.1860.62)	0.418±0.062
Rata/4F/0612AR	2.16 (10)	1	1	236 ±18 (1.87 ±0.14)	916±86 (7.25±0.68)	0.725±0.068
Rata/4M/062AR	2.16(10)	30	1	154±37 (1.22 ±0.29)	412±106 (3.26±0.84)	0.326±0.084
Rata/4F/0612AR	2.16(10)	30	1	220±19 (1.74 ±0.15)	858±169 (6.79±1.34)	0.679±0.134
Rata/4M/0612AR)	15.1 (70)	1	1-3	769±126 (6.09 ±1.00)	4230±328 (33.5±2.6)	0.479±0.037
Rata/4F/0612AR	15.1 (70)	1	1	984±81 (7.79 ±0.64)	8120±632 (64.3±5.0)	0.919±0.071
Rata/4M/0612AR	15.1 (70)	30	1	1160±80 (9.21 ±0.63)	5630±379 (44.6±3.0)	0.637±0.043
Rata/4F/0612AR	15.1 (70)	30	1	1420±76 (11.2±0.6)	9600 ±1120 (76.0±8.9)	1.09±0.13
Rata/4M/0612AR	64.9 (300)	1	1-6	1670±480 (13.2±3.8)	23900±3160 (189±25)	0.630±0.083
Rata/4F/0612AR	64.9 (300)	1	1-3	2480±467 (19.6±3.7)	40400±3660 (320 ±29)	1.07±0.10
Rata/4M/0612AR	64.9 (300)	30	1	2780±290 (22.0±2.3)	29300±2150 (232±17)	0.773±0.057
Rata/4F/0612AR	64.9 (300)	30	1	2930±707 (23.2±5.6)	42100±5310 (333±42)	1.11±0.14
Conejo/3F/DMB15η	0.115 (0.3)	18	0.317-0.970	24.7±4.7 (0.111 ±0.016)	50.2±7.9 (0.205 ±0.053)	0.148±0.038
Conejo/3F/DMB15η	0.269 (0.7)	18	0.217-0.483	138±70 (0.583 ±0.247)	228±41 (0.872 ±0.342)	0.270±0.106
Conejo/3F/DMB15η	0.384 (1)	18	0.250-2.02	78.1±16.8 (0.317±0.094)	232±44 (1.01±0.19)	0.217±40
Conejo/2F/DMB15η	1.15 (3)	18	0.3-1	224-296 (1.04-1.37)	636-846 (2.9-3.9)	0.212-0.282

ES 2 424 627 T3

(continuación)

Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis mg/kg (μmol/kg)	Día de Tratamiento	T _{max} h	C _{max} ng/ml (μM)	AUC ng h/mL (μM h)	AUC/dosis
Conejo/3F/DMB15 ^{fl}	3.84 (10)	18	0.483-2.18	677±246 (3.13 ±1.14)	2510±1290 (11.6±6.0)	0.251±0.129
Minicerdo/2F+2M/50190 ^f	73.1 (338)	1	2-6	379±262 (1.75 ±1.21)	3140±2000 (14.5±9.31)	0.0429 ±0.0275
Minicerdo/2F+2M/50190 ^f	73.1 (338)		0.5-4	794±316 (3.67 ±1.46)	4610±2110 (21.3±9.75)	0.0630 ±0.0288
Minicerdo/2F+2M/50190 ^f	422 (1951)	7	12	1420-1570 (6.57-7.24)	25700-27700 (119-128)	0.0610-0.0656
Perro/2F+2M/0190DD ^{af}	34.6 (160)	1	1-3	694±387 (3.21 ±1.79)	4430±3010 (20.5±13.9)	0.128±0.087
Perro/2F+2M/0190DD ^{af}	34.6 (160)	7	1	2120 ±1070 (9.79 ±4.96)	6970±3050 (32.2±14.1)	201±0.088
Perro/2F+2M/0190DD ^{aw}	34.6 (160)	1	0.5	1130±234 (5.20 ±1.08)	4890±500 (22.6±2.3)	0.141±0.014
Perro/2F+2M/0190DD ^{af}	34.6 (160)	7	0.5-1	1560±921 (7.22 ±4.26)	7200±3030 (33.3±14.0)	0.208±0.088
Perro/2F+2M/0190DD ^{af}	138 (640)	1	1-6	1520±582 (7.04 ±2.69)	11900±7330 (55.0±33.9)	0.0859 ±0.0530
Perro/2F+2M/0190DD ^{af}	138 (640)	7	0.5-6	1360±666 (6.27 ±3.08)	7160±2860 (33.1±13.2)	0.0517 ±0.0206
Perro/3F/0295AD ^{af}	8.65 (40)	7	1-7	302±186 (1.39 ±0.86)	981±330 (4.53±1.53)	0.113±0.038
Perro/3F/0295AD ^{af}	8.65(40)	35	1-9	270±72 (1.25 ±0.33)	924±145 (4.27±0.67)	0.107±0.017
Perro/3M/0295AD ^{af}	8.65 (40)	7	0.5-7	286±12 (1.32 ±0.06)	868±441 (4.0±2.04)	0.100±0.051
Perro/3M/0295AD ^{af}	8.65 (40)	35	8.5-9	373±80 (1.73 ±0.37)	1250±341 (5.79 ±1.57)	0.145±0.039
Perro/3F/0295AD ^{af}	17.3 (80)	7	0.5-6.5	850±540 (3.93 ±2.49)	2130 ±796 (9.83±3.68)	0.246±0.092
Perro/3F/0295AD ^{af}	17.3(80)	35	1-9	439 ±169 (2.03 ±0.78)	2020 ±420 (9.33±1.94)	0.233±0.049

(continuación)

Especie/No. Sexo/Estudio No.	Dosis mg/kg (µmol/kg)	Día de Tratamiento	T _{max} h	C _{max} ng/ml (µM)	AUC ng h/mL (µM h)	AUC/dosis
Perro/3M/0295AD ^{αφ}	17.3 (80)	7	6.5-7	619±223 (2.86 ±1.03)	1930±411 (8.92±1.90)	0.223±0.047
Perro/3M/0295AD ^{αφ}	17.3 (80)	35	1-9	608±254 (2.81 ±1.18)	1690±72 (7.85±0.33)	0.196±0.008
Perro/6F/0295AD ^{αφ}	34.6 (160)	7	0.5-6.5	1880 ±1060 (8.69 ±4.90)	4160±1990 (19.2 ±9.2)	0.120 0.058
Perro/6F/0295AD ^{βφ}	26.0 (120)	35	1-8.5	1190±385 (5.49 ±1.78)	3460±942 (16.0±4.4)	0.133±0.036
Perro/6M/0295AD ^{αφ}	34.6 (160)	7	0.5-7	1910 ±949 (8.82 ±4.39)	5260 ±2610 (24.3±12.1)	0.152±0.075
Perro/6M/0295AD ^{βφ}	26.0(120)	35	0.5-2	1760±699 (8.16 ±3.23)	4530±752 (20.9±3.5)	0.174 ±0.029

α: La dosis fue dividida en partes iguales en dos con 6 horas de separación.

β: La dosis fue dividida en 17.3 y 8.7 mg/kg con 6 horas de separación.

f: Dosis en cápsulas bajo condición de ayuno.

δ: Dosis en solución bajo condición de ayuno.

φ: Dosis en cápsulas bajo condición de alimentación.

η: Dosis subcutánea.

*: Según sea apropiado, se incluyen algunos resultados del día 1.

4.2.2 Distribución

5 El AZD0328 es una molécula de enlazamiento a proteína baja en varias especies incluyendo la humana (<15%) en el rango de concentración de 21.6 a 21.630 ng/ml (0.1 a 100 µM). En la mayoría de las especies, el enlazamiento fue independiente de la concentración y el género. En un estudio QWBA en ratas (dosis oral), las concentraciones máximas en sangre y plasma de radioactividad derivada del [¹⁴C]-AZD0328 en todos los animales se observó a 0.5 horas postdosis, la cual declinó rápidamente a niveles que estaban por debajo del límite de cuantificación (BLQ) a 24 horas postdosis. La radioactividad derivada de [¹⁴C]-AZD0328 fue distribuida rápidamente a los órganos y tejidos con altos niveles de radioactividad asociados con el contenido del tracto gastrointestinal y los órganos excretores principales, incluyendo el riñón y el hígado. La radioactividad declinó rápidamente y a las 168 horas postdosis los niveles de radioactividad no eran detectables en la mayoría de los tejidos, con la excepción de algunos pocos tejidos oculares y turbinados nasales. Los niveles de radioactividad derivada de [¹⁴C]-AZD0328 en los tejidos CNS fueron superiores que en sangre durante los tiempos de muestreo tempranos, sugiriendo una penetración en el cerebro. Se observó una asociación notable de la radioactividad relacionada con [¹⁴C]-AZD0328 con los tejidos que contienen melanina, con la radioactividad medible aun presente en los tejidos oculares a las 216 horas postdosis. La radioactividad derivada de [¹⁴C]-AZD0328 cruzó la placenta.

4.2.3 Metabolismo

20 El quinuclidinil-N-óxido del AZD0328 es un metabolito principal (inactivo farmacológicamente) detectado en todas las incubaciones excepto para hepatocitos humanos. La piridinil metilación del AZD0328 fue un metabolito polar único (M2) observado en hepatocitos de perro. Otros productos menores de la hidroxilación/oxidación y conjugación de glucurónido fueron detectados en incubaciones de hepatocitos de monos, perros, ratas y cobayas y en incubaciones de microsomas hepáticos de minicercos. Se probaron cuatro lotes separados de hepatocitos humanos, y no se detectaron metabolitos a partir de estas incubaciones de hepatocitos. El análisis de muestras de plasma y orina de

cada rata dosificada oralmente o por iv confirmó que el producto N-óxido del AZD0328 era un producto principal en la excreción y circulación. El porcentaje del N-óxido de AZD0328 en el plasma de ratas macho fue mucho más alto que en hembras.

4.2.4 Eliminación/excreción

5 La farmacocinética y el balance de masas de [¹⁴C]-AZD0328 fueron investigados en ratas. La excreción de la radioactividad derivada de [¹⁴C]-AZD0328 en ratas fue principalmente a través del riñón. Durante el curso del estudio, la radioactividad recuperada en orina y heces sumó aproximadamente 85% y 8%, respectivamente. No se notaron diferencias por género o ruta de administración en el estudio. Con base en la radioactividad urinaria recuperada (orina más enjuague de la jaula) y la exposición, evaluada por AUC, después de la administración oral versus iv, el AZD0328 fue bien absorbido (97% y 95% para machos y hembras, respectivamente).

10 El AZD0328 exhibió un efecto inhibitorio mínimo hacia CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3As a concentraciones de hasta 21.6 µg/ml (100 µM). El AZD0328 no inhibió significativamente el transporte de digoxina mediado por Pgp. Estos datos sugieren que las interacciones fármaco-fármaco producidas por estas enzimas metabólicas principales y el transportador Pgp son improbables. Utilizando escalamiento alométrico de datos in vivo de rata y mono, se han predicho 5.9 ml/min/kg y Vdss 2.7 L/kg para limpieza sistémica humana y volumen de distribución, respectivamente. Los factores de pendiente alométrica para limpieza escalada y Vdss fueron de 0.74 y 1.07, respectivamente, en línea con la experiencia alométrica estándar. Asumiendo un modelo farmacocinético de un compartimiento, la vida media predicha en humanos para AZD0328 fue de 5.3 horas. La biodisponibilidad de 50% del AZD0328 en humanos se seleccionó de manera conservadora con base en las observaciones en ratas, perros y monos.

4.2.5 Conclusiones con respecto a la farmacocinética y metabolismo del fármaco en animales

25 Se demostraron la exposición al AZD0328 en la farmacología y la toxicidad en especies. Propiedades PK derivadas de las especies preclínicas muestran que esta molécula entra y sale fácilmente del sistema fisiológico y tiene las propiedades requeridas para alcanzar las concentraciones objetivo en el receptor. Con base en los hallazgos de PK in vitro e in vivo en las especies, no hay asuntos anticipados con esta molécula para la primera dosificación en tiempo en el hombre.

4.3 Toxicología

30 Esta sección provee un resumen de los estudios de toxicología llevados a cabo para soportar la administración del AZD0328 en humanos. El programa de toxicología ha incluido estudios de dosis individuales y dosis múltiples en múltiples especies (rata, perro y minicerdo), estudios de genotoxicidad y estudios de toxicidad reproductiva.

4.3.1 Estudios de toxicidad con dosis individual en ratas

35 El objetivo de este estudio era investigar las dosis mínimas letales y máxima no letal de AZD0328 después de una administración oral sencilla. Los estudios de dosis individual fueron llevados a cabo en administración oral e intravenosa en ratas. Los signos clínicos observados fueron los esperados, esto es, ataxia, convulsiones y muerte. No se observaron signos de toxicidad retardada. El principal efecto agudo visto en animales que recibieron AZD0328 fue actividad motora disminuida, anotadas dentro de una hora después de la dosis en todos los grupos. A dosis más altas, se notaron pilo-erección, ojos semicerrados, temblor, cambios respiratorios y espasmos. Se notaron convulsiones crónicas antes de todas las muertes preterminales. En animales supervivientes, los síntomas desaparecieron gradualmente y todos los animales se habían recuperado 23-24 horas después de la dosis.

40 En conclusión, en este estudio, la dosis letal mínima fue identificada como 1400 µmol/kg (300 mg/kg) en machos y 930 µmol/kg (200 mg/kg) en hembras, respectivamente, y la dosis máxima no letal fue 930 µmol/kg (200 mg/kg) en machos y 690 µmol/kg (150 mg/kg) en hembras, respectivamente.

4.3.2 Dosis máxima tolerada y estudio de toxicidad oral en 7 días en el perro

45 Se administraron dosis individuales de 4.5 a 17 mg/kg para probar el AZD0328 a 2 perros macho y 2 hembra. Se obtuvieron valores C_{max} de 2.8 -14 µmol/L, los cuales son aproximadamente 1000 veces más altos que las exposiciones anticipadas en humanos en el estudio SAD. Se observaron signos de náusea y en las dosis más altas de vómito. En el estudio de dosis repetida de 7 días 2 perros macho y 2 hembras recibieron 35 mg/kg por día. Sin embargo, el vómito fue el signo clínico principal registrado durante el estudio.

El registro del ECG mostró una ligera prolongación en QT a dosis de 8.6 mg/kg o más.

50 4.3.3 Dosis máxima tolerada y estudio de toxicidad oral de 7 días en minicerdos

5 Se llevó a cabo un estudio de hallazgo del rango de dosis en minicerdos, con el fin de explorar esta especie como un no roedor adecuado para estudios de toxicidad con el AZD0328. Se utilizaron 4 animales en la fase de escalamiento, con dosis hasta de 1500 mg/kg de sal de tartrato de AZD0328. En la fase de hallazgo del rango de dosis (DRF) 4 animales recibieron dosis de 130 y 1000 mg/kg. Se vieron las muertes después de una dosis individual de 1500 mg/kg y dosis repetidas de 1000 mg/kg. Otros signos observados a niveles de dosis más altas fueron vómito, pérdida de apetito y ritmo cardíaco incrementado. Solo se registró un comportamiento moderado a 130 mg/kg.

4.3.4 Estudios de toxicidad con dosis repetida en ratas

10 El objetivo de esta investigación fue estudiar la toxicidad del AZD0328 dado oralmente a ratas durante 1 mes. Cuatro grupos de ratas, consistente cada uno de 10 machos y 10 hembras, recibieron 0, 2.2, 15 y 65 mg/kg/día (0, 10, 70 y 300 µmol/kg/día) de AZD0328.

15 En conclusión, la administración oral del AZD0328 a ratas durante un mes al nivel de dosis alto de 65 mg/kg/día (300 µmol/kg/día), indujo escajadura y salivación en la mayoría de los animales y ligeros descensos en la actividad motora en unas pocas hembras. Se registraron pequeñas pérdidas en peso corporal antes de la reducción del nivel de dosis alta. El único órgano objetivo identificado por la patología fue el riñón donde hubo un pequeño incremento en el peso del riñón en ambos sexos y la vacuolación de las células tubulares, lo más prominentemente en los conductos colectores de la *medulla y papilla*.

4.3.5 Estudios de toxicidad con dosis repetida en perro

20 El objetivo de este estudio fue investigar la toxicidad causada por la administración oral (cápsula) del AZD0328 para un período de 1 mes en perros. Se dosificaron grupos de 3 perros Beagle machos y 3 hembra dos veces al día durante al menos 28 días a niveles de dosis diarias totales de 0, 8.7, 17 o 35 mg/kg/día (0, 40, 80 o 160 µmol/kg/día). La titulación de la dosis durante 6 días hasta los niveles de dosis seleccionados precedió el período de dosificación de 1 mes.

25 En conclusión, la administración oral dos veces al día de AZD0328 a perros durante un mes después de la titulación durante 6 días dio como resultado incidencias de comportamiento moderado, vómito con retorcimiento de músculos y convulsión tónica registrados en una minoría de animales. Se observaron prolongaciones reversibles del intervalo QTcV a niveles de dosis por encima de 26 mg/kg/día (120 µmol/kg/día). El nivel de efecto no adverso para este estudio fue una dosis diaria total de 17 mg/kg/día (80 µmol/kg/día).

4.3.6 Genotoxicidad

30 El potencial genotóxico del AZD0328 ha sido evaluado en la prueba de Ames y en la prueba de linfoma de Mouse. El AZD0328 no fue mutagénico en ninguna de estas pruebas.

4.3.7 Conclusiones con respecto a toxicología

Las principales preocupaciones de seguridad detectadas en los estudios de toxicología son:

- los efectos sobre el ECG en perros, principalmente la prolongación del QTcV.
- los efectos en el riñón, con un pequeño incremento en el peso del riñón y vacuolación en los túbulos.

35 El estimado presente de dosis terapéuticas produce un $C_{max} < 1$ nm. En comparación con los datos de los ensayos de repolarización y las exposiciones NOEL estimadas con respecto al QTcV en perros, los niveles de efectos son 500-1000 veces más altos.

El límite de exposición en humanos con base en el estándar AZ para un margen de 100 veces a los efectos de QT indicaría una concentración máxima en plasma de 5 nM en sujetos humanos.

40 El límite de exposición en humanos, con base en los efectos adversos vistos en riñones en ratas sería una exposición de AUC 1500 nmolh/L o C_{max} de 600 nmol/L. Esto corresponde a la mitad de la exposición observada en la dosis NOAEL (2.2 mg/kg) en el estudio de toxicidad en ratas de 1 mes antes mencionado.

5. Efectos en humanos

En el momento de la preparación de esta IB, el AZD0328 no ha sido administrado a humanos.

45 6. Resumen de datos y guía para los investigadores

6.1 Farmacología no clínica, PK y toxicología

El AZD0328 es un agonista de alta afinidad, potente y eficaz en los receptores α_7 recombinante humano y de cerebro de rata in vitro, y evoca una mejora sostenida en el desempeño de tareas cognitivas en ratones, ratas y monos. El NOAEL para el desempeño de memoria de trabajo espacial disminuida y para los efectos laterales en CNS similares a estimulantes en monos rhesus fue determinado en 0.016 mg/kg, una dosis que se estima alcanza un Cmax en plasma libre de 18 nM en monos rhesus. Las dosis proyectadas para producir beneficios terapéuticos en sujetos humanos caen por lo tanto en el rango de 0.0001-0.01 mg/kg. Los estudios de farmacología de seguridad muestran una prolongación dependiente de la dosis y del tiempo del intervalo QTc. Aunque no se pudo establecer un NOAEL para la prolongación de QTc en perros, los datos homogéneos obtenidos en todos los ensayos de repolarización, sugieren colectivamente que los efectos del AZD0328 en la repolarización cardiaca no se esperan a concentraciones en plasma en unidades logarítmicas por debajo de 1 μ M

Históricamente, la potencia del AZD0328 en modelos de farmacología primarios animales fue descubierta en dos fases. Primero, se descubrió la eficacia del AZD0328 en el rango de 1 a 3 mg/kg en el modelo de ratas lesionadas en la fimbria-fornix, y el estudio de farmacología de seguridad, toxicología, en los tities fue llevado a cabo con base en estas dosis. Después de que estos estudios fueron terminados, la eficacia del AZD0328 en el rango de 0.00048-0.0016 mg/kg en la prueba de respuesta retardada espacial del mono rhesus fue descubierto y corroborado con varios estudios adicionales en ratones y ratas. Como resultado, los estudios de farmacología primarios cubren un rango muy amplio de dosis bien por debajo de las utilizadas en los estudios de farmacología de seguridad y toxicología.

El AZD0328 fue rápidamente y bien absorbido en ratas. La vida media de eliminación fue menor de 5 horas observada en conejos y hurones. La eliminación fue completa durante el intervalo de 24 horas a los niveles de dosis probados. Se demostraron exposiciones significativas en fluido cerebroespinal (CSF) y cerebro. El AZD0328 es una molécula de enlazamiento a proteínas bajas presente en especies que incluyen la humana (< 15%). El quinuclidinil-N-óxido del AZD0328 fue un metabolito principal (inactivo farmacológicamente) y la excreción en ratas sucedió principalmente a través del riñón.

Los hallazgos de toxicología clave fueron la prolongación de QTcV en perros, náusea, vómito y convulsiones fueron efectos de CNS vistos en todas las especies, y en las ratas, se observó la vacuolación renal. El AZD0328 no fue genotóxico en los sistemas de prueba usados.

6.2 Necesidad de márgenes de seguridad, monitoreo y precauciones asociadas con la ejecución de un estudio clínico

6.2.1 Límites de exposición sistémica

Dados los hallazgos en los estudios de toxicología de dosis repetida de 1 mes en ratas, es razonable fijar límites de exposición sistémica humanos después de la administración de dosis individuales iguales a la exposición observada en NOAEL para la vacuolación de túbulos renales. La dosis equivalente humana correspondiente, con base en la guía de la FDA (a través del escalamiento alométrico del área superficial del cuerpo) es, 0.35 mg/kg. Una dosis de 0.03 mg/día se propone como dosis de partida. Esta dosis se selecciona puesto que se espera producir una exposición (Cmax 0.7 nmol/L y AUC 5.5 nmolh/L) en el rango que da como resultado un desempeño cognitivo mejorado (Cmax 0.5-1.7 nmol/L) en un estudio farmacodinámico en monos rhesus y bien por debajo del NOAEL para los efectos colaterales en comportamiento (Cmax 18 nmol/L, AUC 28 nmolh/L). No se excederá una exposición de AUC 1500 nmolh/L o Cmax 600 nmol/L. Esto corresponde a la mitad de la exposición observada en la dosis NOAEL (2.2 mg/kg) en el estudio de toxicidad en ratas de 1 mes antes mencionado.

6.2.2 Monitoreo de seguridad

Los efectos en QT serán monitoreados cercanamente mediante ECG digital continuo y telemetría. Los efectos en CNS serán monitoreados mediante cuestionarios abiertos AE: alrededor del Cmax esperado, 6 horas después de la dosificación, 24 horas después de la dosificación y seguimiento. Se aplicarán los criterios de detención listados más abajo. Si ocurre lo siguiente, el SRC decidirá si se debe reensayar el nivel de dosis probado o una dosis inferior.

6.3 Indicaciones para ser estudiadas

Los objetivos del programa clínico son demostrar la eficacia y seguridad del AZD0328 en el tratamiento de pacientes con disminución cognitiva, esto es, AD o CDS.

6.4 Tratamiento para sobredosis y reacciones adversas

No hay un antídoto específico disponible para el tratamiento de sobredosis de AZD0328 y así, solamente hay disponible un tratamiento sintomático y de soporte en tales casos. Es improbable que la eliminación del AZD0328 pueda ser incrementada por diuresis forzada o alcalinización/acidificación de la orina puesto que el volumen esperado de distribución sugiere que mucho más del 95% del contenido del cuerpo está por fuera del compartimento plasmático. Las reacciones adversas deberían ser tratadas sintomáticamente.

6.5 Análisis de riesgo-beneficio y conclusión

General

5 La pérdida progresiva de neuronas en el lóbulo frontal basal que sintetiza y libera la acetilcolina es un rasgo principal de la AD. El tratamiento disponible actualmente con inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa (AChEI) ofrece a los
 10 pacientes con AD solamente una mejora sintomática modesta en la función cognitiva. Se ha postulado ampliamente que los agonistas de acción directa de diversos receptores colinérgicos, incluyendo el subtipo α_7 de receptores de acetilcolina nicotínica, al restaurar la señalización del receptor colinérgico perdida, representan agentes terapéuticos potenciales atractivos superiores a AChEI. La disfunción en la neurotransmisión de GABA, glutamato y dopamina en el PFC representa la hipótesis de guía de la disfunción cortical y la disminución cognitiva en la esquizofrenia. Al
 15 activar la neurotransmisión de glutamato, GABA y dopaminérgica para influir en la plasticidad en la sinapsis de PFC puede normalizar la función de DIPFC en pacientes esquizofrénicos normalizando por lo tanto el desempeño de tareas cognitivas.

20 El subtipo α_7 de receptores de acetilcolina nicotínicos (receptor de α_7) son canales de iones con compuerta de ligando implicados en la modulación del heterorreceptor sináptico de sistemas neurotransmisores principales. Los receptores α_7 están localizados en los circuitos cerebrales afectados tanto en AD como en CDS. El AZD0328, es un agonista del receptor de α_7 selectivo, potente, oralmente activo bajo desarrollo por AstraZeneca que modula la neurotransmisión del hipocampo y de GABA cortical, de glutamato y dopaminérgica, facilita la plasticidad sináptica y mejora el desempeño de las tareas cognitivas en múltiples modelos animales. Hay una gran necesidad médica por fármacos que puedan ofrecer un efecto sintomático mejorado y más sostenido y una tolerancia mejorada frente a los fármacos de AChEI en la AD. También hay una gran necesidad médica por fármacos que puedan mejorar el CDS. El AZD0328 puede proveer alivio sintomático de la pérdida de la memoria y déficits cognitivos observados en pacientes con AD y/o proveer un adjunto a terapias antipsicóticas actuales para mejorar los déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia. Por lo tanto, hay fuertes razones para investigar si el AZD0328 es de valor en pacientes con AD y CDS.

25 Se han notado diversos efectos adversos en la farmacología de seguridad no clínica y en los estudios de toxicidad, por ejemplo sedación, ataques, ritmo de pulso y presión sanguínea incrementados, vacuolación renal reversible y también prolongación de QT. Todos los efectos adversos han ocurrido a exposiciones en el rango micromolar, y no se considera que representen una preocupación de seguridad significativa para los pacientes puesto que las concentraciones en plasma terapéuticamente efectivas se esperan en el rango nanomolar bajo.

30 Los efectos reversibles en riñón vistos en las ratas han sido utilizados para fijar el límite de exposición máxima. Debido a la carencia de una variable de seguridad ideal para monitorear la disfunción/toxicidad renal temprana el límite de exposición superior ha sido fijado en un nivel correspondiente a la mitad del NOAEL observado en el estudio en ratas de 1 mes.

35 La prolongación de QT fue observada a dosis más altas en un estudio de telemetría en perros. No se anticipan problemas en QT en los estudios humanos debido al gran margen de seguridad pero se llevarán a cabo registros de ECG en el primer momento en el estudio en hombres y se dará una atención cercana a cualquier cambio en QT.

40 Algunos efectos colaterales similares a estimulantes en CNS del AZD0328 han sido observados en los estudios con el mono Rhesus. Sin embargo estos efectos fueron transientes y la relevancia para el hombre no está clara. Se anticipa que la dosis de partida propuesta en el primer estudio en hombres dará una exposición con un margen adecuado a la exposición que produce los efectos laterales en CNS en los monos. También, los efectos en el CNS son fáciles de monitorear clínicamente por la experiencia subjetiva de los participantes en el estudio y cualquier efecto lateral en CNS durante los escalamientos de dosis serían por lo tanto claramente fáciles de detectar.

6.6 Conclusión

45 Dado el perfil farmacológico y de toxicología observado en los estudios no clínicos, se juzga que el AZD0328 puede ser dado a un hombre en ensayos clínicos cuidadosamente monitoreados. Se concluye que las dosis individuales del AZD0328 hasta el límite de exposición (AUC: 1500 nmolh/L o C_{max} : 600 nmol/L) junto con los procedimientos de monitoreo de seguridad se espera que no planteen ningún riesgo predecible de infligir daños o lesiones. Se considera que los beneficios potenciales de un tratamiento futuro mejorado de la disfunción cognitiva en AD en un tratamiento que puede mejorar los déficits cognitivos en pacientes con esquizofrenia tienen más importancia que
 50 cualquier riesgo previsible.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una composición farmacéutica que contiene una cantidad de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] entre 0.025 y 0.68 mg por dosis unitaria junto con al menos un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
2. El uso de (*R*)-spiro[1-azabicyclo[2.2.2]octano-3,2'(3'H)-furo[2,3-b]piridina] en la preparación de un medicamento que comprende una dosis unitaria en el rango de 0.025-0.68 mg para la terapia de un sujeto que sufre de una condición neurológica o psiquiátrica.
- 10 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 2, en donde dicha condición neurológica o psiquiátrica es seleccionada de Enfermedad de Alzheimer, Trastorno de Déficit de Atención/Hiperactividad (ADHD), disfunción Cognitiva en asociación con Esquizofrenia o disfunción Cognitiva.
4. El uso de acuerdo con la reivindicación 2 o reivindicación 3 para proveer alivio de la pérdida de memoria o deficiencia cognitiva.