

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 333**

51 Int. Cl.:

A61P 25/08 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61P 9/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.06.2007 E 11002768 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.03.2016 EP 2345455**

54 Título: **Lacosamida para el tratamiento de los trastornos de hiperexcitabilidad asociados con el canal de sodio**

30 Prioridad:

30.06.2006 EP 06013655

12.10.2006 EP 06021469

12.10.2006 EP 06021470

22.11.2006 EP 06024241

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
10.05.2016

73 Titular/es:

UCB PHARMA GMBH (100.0%)

Alfred-Nobel-Strasse 10

40789 Monheim, DE

72 Inventor/es:

BEYREUTHER, BETTINA;

HEERS, CARA y

STÖHR, THOMAS

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 569 333 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

Lacosamida para el tratamiento de los trastornos de hiperexcitabilidad asociados con el canal de sodio

La presente invención se dirige al uso de una clase de compuestos peptídicos para tratar enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad, tales como enfermedades asociadas con un tejido hiperexcitable. La presente invención también se dirige al uso de una clase de compuestos peptídicos para tratar enfermedades asociadas con la disfunción de un canal iónico.

La presente solicitud reivindica las prioridades de EP 06 021 470.7 presentada el 12 de Octubre de 2006, EP 06 021 469.9 presentada el 12 de Octubre de 2006, EP 06 013 655.3 presentada el 30 de Junio de 2006 y EP 06 024 241.9 presentada el 22 de Noviembre de 2006.

Se sabe que algunos péptidos presentan actividad sobre el sistema nervioso central (CNS) y son útiles en el tratamiento de la epilepsia y otros trastornos del CNS. Estos péptidos se describen en las patentes de EE.UU. No. 5.378.729 y No. 5.773.475.

El documento WO 02/074297 se refiere al uso de compuestos peptídicos para la preparación de composiciones farmacéuticas útiles para el tratamiento del dolor neuropático relacionado con la alodinia. El documento WO 02/074784 se refiere al uso de compuestos peptídicos que muestran propiedades antinociceptivas para tratar diferentes tipos y síntomas de dolor crónico y agudo, especialmente dolor inflamatorio no neuropático, por ejemplo dolor artrítico reumatoide y/o dolor osteoartrítico inflamatorio secundario.

Según su modo de regulación, los canales iónicos se pueden dividir en canales iónicos regulados por voltaje y canales iónicos regulados por ligandos. Los canales iónicos regulados por ligandos también se refieren como receptores. Ejemplos de canales iónicos regulados por voltaje son canales de sodio regulados por voltaje, canales de calcio regulados por voltaje, canales de potasio regulados por voltaje y canales de cloruro regulados por voltaje. Ejemplos de canales iónicos regulados por ligandos son receptores nicotínicos de acetilcolina, receptores de rianodina (canales de liberación de calcio), receptores regulados por nucleótidos cíclicos, receptores de ATP, receptores de GABA-A, receptores de glutamato-NMDA, receptores de glicina, receptores de 5-HT₃, y canales sensibles al pH tales como el canal iónico sensible al ácido (ASIC), y receptores de TRP.

La hiperexcitabilidad se define en la presente memoria como un aumento anormal de la sensibilidad de una neurona del sistema nervioso central o periférico a la entrada sináptica. Además, la hiperexcitabilidad también se refiere como un aumento anormal de la sensibilidad de cualquier membrana excitable, tal como una membrana celular muscular, a una señal fisiológica o a la excitotoxicidad causada por una señal patofisiológica.

Ejemplos de tejidos hiperexcitables son todos los tejidos inervados tales como el tejido nervioso central o periférico, tejido muscular y otros tejidos de órganos.

Ejemplos de enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad son las canalopatías, enfermedades por ansiedad y estrés.

La hiperexcitabilidad se puede inducir por la disfunción de los canales iónicos. Según su modo de regulación, los canales iónicos se pueden dividir en canales iónicos regulados por voltaje y canales iónicos regulados por ligandos. Los canales iónicos regulados por ligandos también se refieren como receptores. Ejemplos de canales iónicos regulados por voltaje son canales de sodio regulados por voltaje, canales de calcio regulados por voltaje, canales de potasio regulados por voltaje y canales de cloruro regulados por voltaje. Ejemplos de canales iónicos regulados por ligandos son receptores nicotínicos de acetilcolina, receptores de rianodina (canales de liberación de calcio), receptores regulados por nucleótidos cíclicos, receptores de ATP, receptores de GABA-A, receptores de glutamato-NMDA, receptores de glicina, receptores de 5-HT₃, y canales sensibles al pH tales como el canal iónico sensible al ácido (ASIC), y receptores de TRP.

La disfunción de los canales iónicos puede tener una causa genética u otras causas, tales como un daño del tejido.

Las enfermedades causadas por una o más mutaciones de genes que codifican subunidades de canales iónicos o proteínas que las regulan se refieren como canalopatías. Hay un gran número de distintas disfunciones que se sabe que están causadas por mutaciones del canal iónico. Comprenden un grupo heterogéneo de trastornos normalmente hereditarios que en la mayor parte de los casos se caracterizan clínicamente por episodios de excitabilidad alterada de las células nerviosas o musculares. Los genes para la construcción de los canales iónicos están muy conservados entre los mamíferos y una afección, la parálisis periódica hipercalemica, fue identificada por primera vez en los descendientes de Impressive, un caballo de carreras con pedigrí. Los ejemplos bien conocidos de canalopatías identificadas son enfermedades del músculo esquelético (tal como la parálisis periódica hiper-, hipo- y normocalémica (concentraciones en sangre de potasio altas, bajas y normales, distonía paroxística, miotonia congénita y paramiotonia congénita), trastornos de excitabilidad del sistema nervioso central (tales como ataxias episódicas y diversas formas de epilepsias hereditarias), y arritmias cardíacas (tales como síndromes de QT largo).

Las disfunciones de los canales iónicos también pueden estar causadas por variaciones de los genes de los canales

iónicos que no son suficientemente graves para ser clasificadas como mutaciones, sino que se refieren como polimorfismos. Tales polimorfismos pueden contribuir a respuestas únicas a fármacos en vehículos de estas variantes de los genes (Kass, RS, J Clin Invest (2005), 115:1986-1989).

5 Los canales de sodio regulados por voltaje son responsables de la generación y propagación de los potenciales de acción en las células excitables. La excitabilidad de los tejidos depende principalmente del número de canales de sodio regulados por voltaje que están disponibles para activación. La fracción de canales de sodio disponible para activación está regulada por la inactivación rápida, que ocurre en una escala de tiempo de milisegundos, y la inactivación lenta que ocurre en segundos o minutos.

10 Se sabe que las mutaciones de genes que codifican los canales de sodio causan un número de enfermedades características. La mayor parte de las mutaciones de los canales de sodio hereditarias que están asociadas con enfermedades humanas altera el proceso de inactivación y por ello altera el control esencial de la duración del impulso eléctrico que se efectúa por la transición al estado inactivado (Jurkat-Rott, K, J Clin Invest (2005), 115:2000-2009). La mayoría de las mutaciones bien caracterizadas están en el gen del canal de sodio SCN4A que codifica la subunidad alfa del canal de sodio del músculo esquelético. Las siguientes enfermedades se enumeran en la base de datos OMIM de NCBI para el gen SCN4A:

- Calambres, familiar, agravada por potasio MIM: 603967
- Parálisis periódica hipercalémica MIM: 170500
- Parálisis periódica hipocalémica MIM: 170400
- Miotonía congénita, atípica, sensible a la acetazolamida MIM: 608390
- 20 • Paramiotonía congénita MIM: 168300

25 Las enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad o/y enfermedades asociadas con la disfunción de un canal iónico podrían estar causadas por la disfunción genética de canales iónicos regulados por voltaje o ligandos, tales como canales de calcio regulados por voltaje, canales de potasio regulados por voltaje, canales de cloruro regulados por voltaje, receptores nicotínicos de acetilcolina, receptores de rianodina (canales de liberación de calcio), receptores regulados por nucleótidos cíclicos, receptores de ATP, receptores de GABA-A, receptores de glutamato-NMDA, receptores de glicina, receptores de 5-HT3 y canales sensibles al pH tales como el canal iónico sensible al ácido (ASIC), y los receptores de TRP. Las enfermedades asociadas con la disfunción de estos canales iónicos incluyen síndromes de epilepsia.

30 La lacosamida no ejerce sus efectos sobre la excitabilidad neuronal ejerciendo un efecto sobre la inactivación rápida de los canales de Na⁺ regulados por voltaje (Errington et al., Neuropharmacology, 2006, 50:1016-1029).

35 La presente invención demuestra que la lacosamida es capaz de potenciar selectivamente la inactivación lenta de los canales de sodio regulados por voltaje, dejando el comportamiento normal de la activación y la inactivación rápida. Esto constituye un nuevo mecanismo de acción de la lacosamida, que así puede influir positivamente en las enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad. Debido a este nuevo mecanismo de acción, la lacosamida puede normalizar de forma eficiente la función excesiva del canal de sodio tal como una inactivación lenta reducida que se ha visto por ejemplo en los canales mutados.

40 El modo de acción de la lacosamida difiere del de los fármacos comunes usados para el tratamiento de las enfermedades asociadas a los canales de sodio regulados por voltaje. Los fármacos comunes usados en el tratamiento de las enfermedades asociadas a los canales de sodio regulados por voltaje afectan a menudo a la inactivación rápida de los canales de sodio regulados por voltaje y por lo tanto afecta a la propagación de señales en los tejidos excitables. En contraste, la lacosamida provoca el un desplazamiento de la curva de inactivación lenta a potenciales más negativos, lo que reduce la excitabilidad, pero no afecta a la propagación de la señal.

45 Lehmann-Horn et al. (Current Neurology and Neuroscience Reports (2002) 2:61-69) informan que el mecanismo habitual de la inexcitabilidad en todos los fenotipos conocidos de debilidad episódica, tal como la parálisis periódica familiar episódica, es una despolarización de larga duración que inactiva los canales iónicos de sodio. Mediante los compuestos de la presente invención, se puede restablecer la inactivación al menos parcialmente en tales pacientes.

50 No se ha informado del uso de lacosamida para el tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad o/y para el tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico. Así, la presente invención se refiere al uso de lacosamida para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad. La presente invención también se refiere al uso de lacosamida para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico.

En el contexto de la presente invención, la hiperexcitabilidad incluye:

- hiperactividad asociada con canales iónicos:

5 La lacosamida interacciona con los canales de sodio regulados por voltaje de una manera nueva (Ejemplos 1 y 4): en contraste con los demás fármacos, potencia la inactivación lenta en vez de la rápida de estos canales. Esta es una forma eficaz de reducir la hiperactividad patológica de los canales de sodio, es decir, inducida por canalopatías de sodio. Mediante la potenciación de la inactivación lenta de los canales de sodio, también se puede reducir la hiperactividad de las canalopatías asociadas con los canales diferentes del canal de sodio.

- Hiperactividad que da como resultado neurodegeneración:

10 La hiperexcitabilidad por ejemplo, como la mediada por una actividad defectuosa del canal de sodio, puede dar como resultado la neurodegeneración - un fenómeno llamado exitotoxicidad. La lacosamida bloquea de forma eficaz la exitotoxicidad (Ejemplo 3), evitando así los efectos tóxicos de la hiperexcitabilidad. De esta forma estos efectos se pueden discriminar de los efectos directos sobre la hiperexcitabilidad ya que en este caso las consecuencias se ven afectadas y no la hiperexcitabilidad por sí misma. Tales efectos son las causas subyacentes de muchas enfermedades del CNS con neurodegeneración en curso, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, trastorno bipolar y esquizofrenia.

- Hiperactividad conductual (es decir, hiperreactividad)

20 En un nivel conductual, la hiperexcitabilidad se presenta como una respuesta exagerada al estrés tal como se observa en enfermedades como la ansiedad, el trastorno de estrés post-traumático o el trastorno obsesivo compulsivo. La hiperexcitabilidad conductual no depende necesariamente de la hiperexcitabilidad celular como por ejemplo se observa en trastornos como la epilepsia y el daño neuropático. La lacosamida atenúa la ansiedad inducida por estrés (Ejemplo 2), demostrando su capacidad para reducir la hiperexcitabilidad también a un nivel conductual.

25 En una realización, la enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad es una enfermedad asociada con un tejido hiperexcitable.

En otra realización, la enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad es una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad en el nivel conductual (es decir, una enfermedad asociada con la hiperreactividad).

La enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad puede ser una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico, tal como un canal iónico regulado por voltaje o un canal iónico regulado por ligandos.

30 En una realización de la presente invención, la enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico está asociada con la disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje.

35 La enfermedad asociada con la disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje puede ser una enfermedad asociada con la inactivación alterada de canales de sodio regulados por voltaje en comparación con un sujeto sano, en particular la inactivación lenta alterada. La enfermedad asociada con la disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje puede también ser una enfermedad asociada con la inactivación alterada de canales de sodio regulados por voltaje en comparación con un sujeto sano en el que está alterada la inactivación rápida de los canales de sodio.

40 En la enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad o/y la enfermedad asociada con la disfunción del canal iónico, la curva de inactivación lenta de un canal de sodio puede verse afectada, en particular la curva de la inactivación lenta se desplaza a potenciales despolarizados en comparación con la curva de inactivación lenta de un sujeto sano. Tales alteraciones funcionales pueden revertirse completamente o al menos parcialmente mediante los compuestos de la presente invención.

45 El canal de sodio regulado por voltaje puede ser cualquier tipo conocido de canales de sodio regulados por voltaje, en particular cualquier tipo expresado en tejidos excitables, tales como músculo y nervio. Ejemplos de genes que codifican los canales de sodio regulados por voltaje o/y subunidades de los mismos incluyen SCN1A, (Na_v 1.1), SCN2A (Na_v 1.2), SCN4A (Na_v 1.4), SCN5A (Na_v 1.5), SCN8A (Na_v 1.6), SCN9A (Na_v 1.7), Na_v 1.8 (SNS o PN3), y Na_v 1.9 (NaN, SNS-2 o PN-5). El canal de sodio regulado por voltaje puede comprender una subunidad de tipo alfa IV de SCN4A. El canal de sodio regulado por voltaje puede comprender también Na_v1.2.

50 En otra realización de la presente invención, la enfermedad de la presente invención es una canalopatía asociada con un disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje. La canalopatía puede estar también asociada con al menos una de las siguientes mutaciones del polipéptido SCN4A: I693T, T704M, S804F, A1152D, A1156T, V1293I, G1306V, T1313A, T1313M, M1360V, M1370V, L1433R, R1448C, R1448H, R1448P, R1448S, R1456E, V1458F, F1473S, M1592V, G1702K, y F1795I.

La enfermedad de la presente invención es un síndrome epiléptico seleccionado de epilepsia generalizada con

convulsiones febriles plus (GEFS+), la epilepsia mioclónica grave infantil (SMEI), convulsiones infantiles neonatales familiares benignas (BNIFS), la epilepsia infantil intratable con convulsiones tónico-clónicas generalizadas (ICEGTC) y los espasmos infantiles (síndrome de West).

5 En otra realización, la enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico es una canalopatía de sodio, tal como una canalopatía seleccionada de las enfermedades listadas en la Tabla 2a.

Tabla 2. Enfermedades diana para potenciadores selectivos de la inactivación lenta de canales de Na⁺ regulados por voltaje en tejidos excitables

Tabla 2a. Disfunción de canales de sodio regulados por voltaje (canalopatías de sodio)

TEJIDO AFECTADO
CNS
síndromes de epilepsia
SCN1A, (Na _v 1.1), SCN2A (Na _v 1.2)
epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus (GEFS+)
epilepsia mioclónica grave infantil (SMEI)
convulsiones infantiles neonatales familiares benignas (BNIFS)
epilepsia infantil intratable con convulsiones tónico-clónicas generalizadas (ICEGTC)
espasmos infantiles (síndrome de West)
(Meisler y Kearney, 2005)

10 **Referencias:**

Farber, NB et al., Molecular Psychiatry (2002), 7:726-733

Lehmann-Horn, Jurkat-Rott www.channelopathies.org

Meisler MH, Kearney JA. J Clin Invest. 2005 Aug;115(8):2010-7. PMID: 16075041

Siep E, et al. Neurobiol Dis. 2002 Mar;9(2):258-68.

15 Victor M, Ropper AH Adams y Victor's Principles of Neurology. 7ª edición, McGraw-Hill Nueva York 2001.

Yang Y et al. J Med Genet. 2004 Mar;41(3):171-4.

20 Basándose en el hallazgo de que los compuestos de la presente invención son capaces de aumentar la inactivación lenta de canales de sodio regulados por voltaje y de este modo actuar frente a la hiperexcitabilidad, se concluye que la composición farmacéutica de la presente invención es adecuada para el tratamiento de enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad.

25 La hiperexcitabilidad puede provocar neurodegeneración. El ejemplo 3 de la presente invención demuestra un efecto neuroprotector de los compuestos de la presente invención. En una realización, la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad se efectúa mediante la neuroprotección, en particular mediante la neuroprotección a corto plazo. En esta realización de la presente invención, la enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad es una afección asociada con daño neuronal o/y neurodegeneración. En particular, la enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad es una afección asociada con daño neuronal o/y neurodegeneración causada por una enfermedad neurodegenerativa o/y enfermedad psicótica.

30 La lacosamida se tolera bien, lo que es una ventaja sobre otros productos terapéuticos usados habitualmente para el tratamiento de enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad o/y de enfermedades asociadas con la disfunción de un canal iónico.

La lacosamida se puede usar en un tratamiento de primera línea de una enfermedad como se define en la presente memoria. Por lo tanto, la composición farmacéutica de la presente invención es adecuada para un tratamiento de primera línea de una enfermedad como se define en la presente memoria.

5 La lacosamida se puede usar también en un tratamiento de segunda línea de una enfermedad como se define en la presente memoria. Por lo tanto, la composición farmacéutica de la presente invención también es adecuada para un tratamiento de segunda línea de una enfermedad como se define en la presente memoria.

Aún otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende lacosamida, para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad, como se define en la presente memoria.

10 Aún otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende lacosamida, para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico, como se define en la presente memoria. La lacosamida también se puede administrar junto con un agente activo adicional para el tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad, como se define en la presente memoria.

15 La lacosamida también se puede administrar junto con un agente activo adicional para el tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico, como se define en la presente memoria.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica.

En una realización, la composición farmacéutica comprende

(a) lacosamida, y

20 (b) al menos otro agente activo para uso en la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad como se define en la presente memoria.

En otra realización, la composición farmacéutica comprende

(a) lacosamida, y

(b) al menos otro agente activo para uso en la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico como se define en la presente memoria.

25 En las realizaciones como se han indicado anteriormente, la lacosamida y el agente activo adicional (b) se pueden formular en una preparación farmacéutica (forma de dosificación unitaria) para administración en el mismo momento o se puede formular en dos o más preparaciones distintas (formas de dosificación separadas) para la administración simultánea o/y secuencial. Las dos preparaciones distintas en las formas de dosificación separadas se pueden administrar por la misma ruta o por rutas diferentes.

30 Las formas de dosificación separadas pueden opcionalmente presentarse dentro del mismo envase, por ejemplo en un único recipiente o en una pluralidad de recipientes dentro de un envase exterior único, o presentarse conjuntamente en envases separados ("presentación común"). Como un ejemplo de presentación dentro del mismo envase o presentación común, se contempla un kit que comprende, en recipientes separados, lacosamida y el agente activo adicional (b). En otro ejemplo, la lacosamida y el agente activo adicional (b) se envasan separadamente y están disponibles para su venta independientemente una e otra, pero se comercializan conjuntamente o se promocionan conjuntamente para uso según la invención. Las formas de dosificación separadas se pueden presentar también a un sujeto separadamente e independientemente, para uso según la invención.

En una realización, la composición farmacéutica para uso comprende una forma de dosificación unitaria que comprende lacosamida y al menos un agente activo adicional (b).

40 En otra realización, la composición farmacéutica de la presente invención para uso comprende formas de dosificación separadas que comprenden

(i) una primera composición que comprende lacosamida, y

(ii) una segunda composición que comprende al menos otro agente activo para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad como se define en la presente memoria.

45 En aún otra realización, la composición farmacéutica de la presente invención para uso comprende formas de dosificación separadas que comprenden

(i) una primera composición que comprende lacosamida, y

(ii) una segunda composición que comprende al menos otro agente activo para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico como se define en la presente memoria.

50

Aún en otra realización de la presente invención, la segunda composición (ii) que comprende el al menos un agente activo adicional puede ser una composición disponible comercialmente.

La composición farmacéutica para uso de la presente invención se puede preparar para administración a mamíferos, tales como seres humanos.

- 5 La composición farmacéutica de la presente invención que comprende (a) lacosamida y (b) al menos un agente activo adicional se puede preparar para uso en la prevención, alivio o/y tratamiento de enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad, como se describe en la presente memoria.

10 La composición farmacéutica de la presente invención que comprende (a) lacosamida y (b) al menos un agente activo adicional se puede preparar para uso en la prevención, alivio o/y tratamiento de enfermedades asociadas con la disfunción de un canal iónico, como se describe en la presente memoria.

Aún otro aspecto de la presente invención es lacosamida para uso en un método para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad.

En una realización, el uso en un método es para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad, en donde el método comprende administrar lacosamida a un sujeto que lo necesite.

- 15 En otra realización, el uso en un método es para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad, en donde el método comprende co-administrar a un sujeto que lo necesite lacosamida y un agente activo adicional para la prevención, alivio, o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad en cantidades terapéuticamente eficaces.

20 En otra realización, el uso en un método es para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico, en donde el método comprende administrar lacosamida a un sujeto que lo necesite.

25 Aún en otra realización, el uso en un método de la presente invención es para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico, en donde el método comprende co-administrar a un sujeto que lo necesite lacosamida y un agente activo adicional para la prevención, alivio, o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal iónico en cantidades terapéuticamente eficaces.

30 La lacosamida se puede co-administrar con mexiletina, inhibidores de anhidrasa carbónica (tales como acetazolamida o diclorfenamida), benzodiazepinas (tales como diazepam, midazolam, alprazolam), SSRI (inhibidores de la reabsorción selectiva de serotonina tales como fluoxetina, fluvoxamina, sertralina, venlafaxina, mirtazapina), baclofen, quinina, fenitoína y otros fármacos anticonvulsivos (tales como lamotrigina, levetiracetam, topiramato, carbamazepina, oxcarbazepina, tiagabina, vigabatrina, zonisamida), antidepresivos tricíclicos (tales como amitriptilina, imipramina, desipramina), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID tales como ácido acetilsalicílico, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno), inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChE) (tales como tacrina, rivastigmina, galantamina, donezepilo), inhibidores de dopa descarboxilasa, agonistas de dopamina (tales como ropinirol, pramipexol, lisurida, pergolida, piribedilo), inhibidores de monoamina oxidasa-B y COMT (tales como tolcapona, entacapona, apomorfina, rasagilina), medicaciones antipsicóticas atípicas (tales como clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina, ziprasidona, aripiprazol y amisulprida), o comprimidos de potasio.

40 El término "co-administración" se refiere a una pluralidad de agentes que, cuando se administra a un sujeto conjuntamente o separadamente, son co-activos en proporcionar beneficio terapéutico al sujeto. Tal co-administración también se refiere como "combinación", "terapia de combinación," "co-terapia," "terapia complementaria" o "terapia adicional". Por ejemplo, un agente puede potenciar el efecto terapéutico de otro, o reducir un efecto secundario adverso de otro, o uno o más agentes pueden ser administrados de forma eficaz a dosis más bajas que cuando se usan solos, o pueden proporcionar un beneficio terapéutico mayor que cuando se usa solo, o puede abordar de forma complementaria diferentes aspectos, síntomas o factores etiológicos de una enfermedad o afección.

45 La co-administración comprende la administración de la combinación de los agentes en cantidades suficientes para conseguir o/y mantener concentraciones terapéuticamente eficaces, por ejemplo, concentraciones de plasma, en el sujeto que lo necesite. La co-administración comprende la administración simultánea o/y posterior. La administración simultánea comprende la administración de los agentes como composición única o como composiciones diferentes.

50 El intervalo de administración de la lacosamida y el agente activo adicional puede depender de las formas de dosificación. La lacosamida se puede administrar primero, o el agente activo adicional (b) se puede administrar primero.

55 Se prefiere que la lacosamida sea sustancialmente enantiopura. Como se usa en la presente memoria, el término "sustancialmente enantiopura" se refiere a un contenido del enantiómero R de al menos 99,5%. Esto corresponde a un exceso enantiomérico (ee) de 99%. Las cantidades respectivas de enantiómero R y S se pueden determinar mediante cromatografía quiral en columna, por ejemplo, mediante HPLC con "ChiralPak" como fase estacionaria,

quiral.

La fabricación de lacosamida se describe en las patentes de EE.UU. Nos. 5.378.729 y 5.773.475, y en la solicitud internacional PCT/EP 2005/010603.

5 La lacosamida se puede emplear en forma de sales en vista de su naturaleza básica por la presencia del grupo amino libre. Así, la lacosamida puede formar sales con una amplia variedad de ácidos, inorgánicos y orgánicos, que incluyen ácidos farmacéuticamente aceptables. Las sales con ácidos farmacéuticamente aceptables son por supuesto útiles en la preparación de formulaciones donde una solubilidad en agua potenciada es lo más ventajoso.

10 Estas sales farmacéuticamente aceptables tienen también eficacia terapéutica. Estas sales incluyen sales de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, yodhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y ácidos sulfúricos así como sales de ácidos orgánicos tales como tartárico, acético, cítrico, málico, benzoico, perclórico, glicólico, glucónico, succínico, aril sulfónico (por ejemplo, ácidos p-toluen sulfónicos, bencenosulfónico), fosfórico, malónico y similares.

15 El médico determinará la dosis de lacosamida que será la más adecuada y que variará con la forma de administración y el compuesto particular elegido, y además, variará con el paciente bajo tratamiento, la edad del paciente, el tipo de enfermedad que se va a tratar. Él generalmente deseará iniciar el tratamiento con dosis pequeñas sustancialmente menores que la dosis óptima del compuesto y aumentar la dosis en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en las circunstancias. Cuando la composición se administra por vía oral, se requerirán cantidades mayores del agente activo para producir el mismo efecto que una cantidad menor dada parenteralmente. Los compuestos son útiles de la misma manera como agentes terapéuticos comparables, y el nivel de dosificación es del mismo orden de magnitud que el empleado generalmente con estos otros agentes terapéuticos.

25 En una realización, la lacosamida se administra en cantidades que varían de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg por kilogramo de peso corporal por día, o en cantidades que varían de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal por día. Este régimen de dosificación puede ser ajustado por el médico para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Los pacientes que lo necesiten pueden ser tratados con dosis del compuesto de la presente invención de al menos 50 mg/día, de al menos 200 mg/día, de al menos 300 mg/día, de al menos 400 mg/día, o de al menos 600 mg/día. En general, un paciente que lo necesite puede ser tratado con dosis a un máximo de 6 g/día, un máximo de 1 g/día, un máximo de 800 mg/día, o un máximo de 600 mg/día. En algunos casos, sin embargo, se pueden necesitar dosis más elevadas o menores.

30 En otra realización, las dosis diarias se incrementan hasta que se alcanza una dosis diaria predeterminada que se mantiene durante el tratamiento adicional.

En aún otra realización, se pueden administrar diariamente varias dosis divididas. Por ejemplo, se pueden administrar tres dosis por día, o dos dosis por día, o una dosis única por día.

35 En aún otra realización, la lacosamida se puede administrar lo que resulta en una concentración en plasma de 0,1 a 15 µg/ml (a lo largo de) y 5 a 18,5 µg/ml (pico), calculado como una media de una pluralidad de sujetos tratados, la administración intravenosa en tratamiento de urgencia puede dar resultados pico de niveles de plásmido de hasta 30 µg/ml.

40 La lacosamida se puede administrar de una manera conveniente, tal como por vía oral, intravenosa (cuando sea soluble en agua), intramuscular, intratecal, rectal (por ejemplo supositorios, gel, líquido, etc.) o subcutánea. En particular, la lacosamida se puede administrar oralmente, rectalmente, o/y i.v. En tratamientos de urgencia, la lacosamida se puede administrar I.V...

45 La composición farmacéutica de la presente invención se puede preparar para el régimen de tratamiento como se describe anteriormente, en particular para el tratamiento con dosis como se describió anteriormente, para efectuar las concentraciones de plasma como se describe anteriormente, para periodos de administración o/y vías de administración como se especifica en las realizaciones de la presente invención como se describe anteriormente.

50 La lacosamida se puede administrar oralmente, por ejemplo, con un diluyente inerte o con un vehículo comestible asimilable, o puede encerrarse en cápsulas de gelatina dura o blanda, o puede comprimirse en comprimidos, o puede incorporarse directamente en la comida de la dieta. Para la administración terapéutica oral, la lacosamida se puede incorporar con excipientes y usarse en forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, y similares. Tales composiciones y preparaciones deben contener al menos 1% de lacosamida. El porcentaje de las composiciones y preparaciones puede, por supuesto, variarse y puede estar convenientemente entre 5 a 80% del peso de la unidad. La cantidad lacosamida en tales composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosificación adecuada. Las composiciones o preparaciones según la presente invención pueden contener entre 10 mg y 6 g de lacosamida.

55 Los comprimidos, troscos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener lo siguiente: Un aglutinante tal como goma de tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes tales como fosfato dicálcico; un agente

desintegrante tal como almidón de maíz, almidón de patata, ácido algínico y similares; un lubricante tal como estearato de magnesio; y se puede añadir un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina o un agente aromatizante tal como menta, aceite de gaulteria, o aroma de cereza. Cuando la forma unitaria de dosificación es una cápsula, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido.

- 5 Pueden estar presentes otros materiales diversos como recubrimientos o modificar de otro modo la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas pueden recubrirse con goma laca, azúcar o ambos. Un jarabe o elixir puede contener el compuesto activo, sacarosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y aromatizante tal como aroma de cereza o de naranja. Por supuesto, cualquier material utilizado en la preparación de cualquier forma unitaria de dosificación debe ser farmacéuticamente puro y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, el compuesto activo puede incorporarse en formulaciones y preparaciones de liberación sostenida. Por ejemplo, se contemplan formas de dosificación de liberación sostenida en donde el ingrediente activo está unido a una resina de intercambio iónico que, opcionalmente, puede estar recubierta con un recubrimiento de barrera de difusión para modificar las propiedades de liberación de la resina.
- 10
- 15 La lacosamida también se puede administrar parenteralmente o intraperitonealmente. También se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilén glicoles líquidos, y mezclas de los mismos y en aceites. En condiciones habituales de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

- 20 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen disoluciones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de disoluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil inyectabilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe preservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones y mediante el uso de tensioactivos. La prevención de la acción de los microorganismos puede ser provocada por varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede ser provocada por el uso en las composiciones de agentes que retrasan la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.
- 25
- 30

- Las disoluciones inyectables estériles se preparan incorporando el compuesto activo en la cantidad requerida en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de la preparación de polvos estériles para la fabricación de disoluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son secado al vacío, o liofilización, opcionalmente junto con cualquier ingrediente adicional deseado.
- 35

- 40 Como se usa en este documento, "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción para sustancias activas farmacéuticas, así como los conocidos en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el ingrediente activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. También se pueden incorporar en las composiciones ingredientes activos suplementarios .
- 45

- Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma unitaria de dosificación o fáciles de administrar y con uniformidad de dosificación. La forma unitaria de dosificación como se usa en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos que se van a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Los detalles de las nuevas formas unitarias de dosificación de la invención están dictadas por y dependen directamente de (a) las características únicas del material activo y el efecto terapéutico particular que se desea alcanzar, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de formulación tal como el material activo para el tratamiento de la enfermedad en sujetos vivos que tienen unas condiciones de enfermedad en la que está dañada la salud corporal como se describe aquí en detalle.
- 50

- 55 El ingrediente activo principal se formula para la administración conveniente y eficaz en cantidades eficaces con un vehículo adecuado farmacéuticamente aceptable en forma unitaria de dosificación como se describe anteriormente en la presente memoria. Una forma de dosificación unitaria puede, por ejemplo, contener el compuesto activo principal en cantidades que van desde 10 mg a 6 g. Expresado en proporciones, el compuesto activo está generalmente presente en desde aproximadamente 1 a aproximadamente 750 mg/ml de vehículo. En el caso de composiciones que contienen ingredientes activos suplementarios, las dosificaciones se determinan por referencia a
- 60

la dosis y forma de administración habitual de dichos ingredientes.

Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "paciente" o "sujeto" se refiere a un animal de sangre caliente, y preferiblemente mamífero, tal como, por ejemplo, gatos, perros, caballos, vacas, cerdos, ratones, ratas y primates, incluyendo seres humanos. El paciente preferido es un ser humano.

- 5 El término "tratar" se refiere a aliviar el dolor asociado con una enfermedad o afección, o a proporcionar alivio de parcial a completo de la enfermedad o la afección del paciente o a aliviar la enfermedad o la afección del paciente.

La lacosamida se administra a un paciente que padece el tipo de trastorno mencionado anteriormente en una cantidad eficaz. Estas cantidades son equivalentes a las cantidades terapéuticamente eficaces descritas anteriormente.

- 10 La presente invención se ilustra adicionalmente mediante el siguiente ejemplo y figuras.

Leyendas de las figuras

Figura 1A: Fracción de canales disponibles después de un pulso repolarizante de -100 mV y -60 mV, respectivamente. LTG: lamotrigina, CBZ: carbamazepina, DPH: fenitoína, LCM: lacosamida.

- 15 **Figura 1B:** dependencia del voltaje de la inactivación lenta en presencia (LCM) o en ausencia (PRETRATAMIENTO) de lacosamida. Las células se mantuvieron a -80 mV y se despolarizaron durante 10 segundos a -10 mV, seguido de un intervalo de recuperación de 1,5 s antes de un pulso de prueba. El intervalo de recuperación de 1,5 s se utiliza para permitir completamente la recuperación de la inactivación rápida haciendo que la ocupación del estado inactivado lento sea el único determinante de la segunda amplitud de pulso de prueba. El impulso de prueba se utilizó para medir la corriente disponible del pico.

- 20 **Figura 2:** Efecto del clordiazepóxido (CDP), pregabalina y lacosamida (LCM, 3 - 30 mg/kg) en SIH. Los datos representan la media \pm SEM de 11-12 ratones/ grupo de tratamiento. *: significativamente diferente de la disolución salina, $P < 0,05$.

- 25 **Figuras 3 y 4:** Los efectos de la lacosamida en el daño neuronal en CA1-CA3 después de la exotoxicidad del glutamato (Glut). 2h antes los cultivos de Glut (15 mM durante 24h) se trataron con el vehículo (Glut), 10 μ M MK-801, 1 μ M Tetrodotoxina (TTX), 1 μ M (S1), 10 μ M (S2) y 100 μ M (S3) de lacosamida. Los compuestos estaban presentes desde 2h antes hasta 24h después del inicio de Glut. Se evaluó el daño neuronal mediante cuantificación densitométrica de absorción de propidio-iodo (PI) (**Fig. 3**) o cuantificación colorimétrica de liberación de LDH (**Fig. 4**) 24h después del comienzo de Glut. El daño por Glut se fijó al 100%, los datos se proporcionan como % de daño por Glut. Los datos se combinaron a partir de 2-4 experimentos independientes. Los datos se proporcionan como valores medios más STD (** $p < 0,001$ vs Glut; ** $p < 0,01$ vs Glut. Ensayo Tukey post hoc después de ANOVA de 1 vía).

- 30 **Figura 5:** la lacosamida desplaza la curva de voltaje de inactivación lenta a potenciales de membrana más hiperpolarizados en oocitos de *Xenopus* que expresan la subunidad alfa del canal de sodio de Rata de Tipo II (**Fig. 5A**). En los ganglios de la raíz dorsal de rata, la lacosamida a 100 μ M aumenta la fracción máxima de la corriente de sodio resistente a TTX inactivada lentamente (**Fig. 5B**) La lacosamida no retrasó la recuperación de la inactivación lenta (**Fig. 5C**).

Ejemplo 1:

- 40 Los estudios iniciales indicaron que lacosamida no produce cambios en los procesos de regulación de inactivación rápida de los canales de sodio de una manera que era consistente con los efectos de los fármacos antiepilépticos existentes. Esto se evidenció por un efecto muy limitado de la lacosamida sobre la descarga del potencial de acción sugerido por etapas o rampas de despolarización cortas. La falta de efecto de lacosamida en la inactivación rápida ha sido soportada además por experimentos llevados a cabo en oocitos de *Xenopus* que expresan subunidades solamente subunidades alfa el canal de sodio. Una vez más, como se observó en células de neuroblastoma, la lacosamida no produjo desplazamientos en la curva de voltaje de inactivación rápida ni retardó la recuperación desde la inactivación rápida de estado estacionario. Contrariamente a la falta de efecto de lacosamida, ambos de estos procesos de activación fueron modificados considerablemente por la carbamazepina, la lamotrigina y fenitoína.

- 45 En el sistema de expresión de oocitos la lacosamida sin embargo, era todavía capaz de producir la inhibición dependiente del voltaje de las corrientes de sodio rápida y profundamente. Los canales de sodio en células N1 E-115 del neuroblastoma de ratón se someten al proceso fisiológico de inactivación lenta además de inactivación rápida cuando se exponen a períodos prolongados de despolarización. Los canales de sodio en la conformación inactivada rápida pueden ser reactivados mediante un pulso de hiperpolarización de 500 ms. Un pulso de prueba siguiente revelará de forma selectiva la cantidad de canales de sodio inactivados lentos.

- 50 Por lo tanto se mantuvieron células de neuroblastoma a un potencial de mantenimiento de -60 mV para inducir la inactivación rápida y lenta y se despolarizaron mediante un pulso de prueba de 10 ms a 0 mV para medir la cantidad

de canales disponibles. Este protocolo se repitió en cada célula con un pulso de hiperpolarización de 500 ms a -100 mV antes del pulso de prueba despolarizante con el fin de eliminar selectivamente la inactivación rápida. En todas las células ensayadas, la carbamazepina (CBZ), lamotrigina (LTG), fenitoína (DPH) y la lacosamida (LCM, (todos los fármacos ensayados a 100 mM) produjo una reducción de la corriente cuando el potencial de mantenimiento fue de -60 mV. Para CBZ, LTG y DPH, la aplicación de un pulso de hiperpolarización de 500 ms a -100 mV invirtió la acción de bloqueo en el canal, siendo la fracción disponible $0,94 \pm 0,19$, $0,88 \pm 0,06$ y $0,99 \pm 0,05$, respectivamente, en comparación con los valores de control (Figura 1A).

En comparación con los resultados de los anticonvulsivos moduladores de los canales de sodio usados clínicamente, la inhibición producida por LCM no fue alterada por el prepulso de hiperpolarización, es decir, por la eliminación de inactivación rápida. Esto indica que, mientras que anticonvulsivos moduladores de los canales de sodio clásicos lamotrigina, carbamazepina y fenitoína actúan selectivamente sobre la inactivación rápida, la lacosamida ejerce sus efectos exclusivamente sobre las corrientes de sodio potenciando la inactivación lenta.

Con el fin de evaluar los efectos dependientes de la concentración de la lacosamida en la entrada de los canales de sodio al estado inactivado lento, se mantuvieron las células a -80 mV y se despolarizaron durante 10 segundos a -10 mV, seguido de un intervalo de recuperación de 1,5 s antes de una prueba de pulso para medir la corriente disponible del pico. El intervalo de recuperación de 1,5 s se utiliza para permitir completamente la recuperación de la inactivación rápida haciendo que la ocupación del estado inactivado lento sea el único determinante de la segunda amplitud de pulso de prueba. Cuando se despolarizaron las células de neuroblastoma durante 10 segundos, la corriente disponible del pico se redujo $0,73 \pm 0,01$ la de la prueba de pulso de pre-acondicionamiento. La lacosamida mejora la entrada de los canales de sodio al estado inactivado lento de una manera dependiente de la concentración (% de los canales en el estado inactivado lento: VEH: 27 %. LCM 32 μ M: 37%, LCM 100 μ M: 50%, LCM 320 μ M: 62%). La lacosamida (100 mM) redujo más del doble la disponibilidad de los canales de sodio que la que resultó de la entrada en el estado inactivado lento.

La constante temporal para la entrada fisiológica en la inactivación lenta era de 12,0 s. En presencia del fármaco, los canales entraron en el estado inactivado lento más rápido (es decir, la constante de tiempo para la entrada era de 4,8 s).

Al igual que con su homólogo más rápido, la medida en que los canales de sodio se someten al proceso de inactivación lenta en estado de equilibrio es dependiente de potencial de membrana. Se evaluó la dependencia de voltaje de la inactivación lenta en células N1 E-115 y reveló inactivación lenta fisiológica a potenciales más despolarizados que -80 mV. Sin embargo, la inactivación lenta estaba completada solo en un 30% en el pulso de acondicionamiento máximo de -10 mV. La lacosamida desplaza las curvas de voltaje de inactivación lenta a potenciales de membrana más hiperpolarizados de una manera dependiente de la concentración. El primer cambio significativo en la disponibilidad de canales en presencia de 100 mM LCM se observó a un potencial de acondicionamiento de -80 mV; más hiperpolarizado que el potencial de reposo típico de muchas neuronas. La aplicación de LCM aumentó significativamente la fracción máxima de corriente hecha disponible por la despolarización en toda el intervalo de potenciales entre -80 mV y -10 mV (-10 mV, CONTROL $0,70 \pm 0,02$, $0,41 \pm 0,04$ LCM). La lacosamida (32 M y 100 μ M) produce un desplazamiento de la V50 para la inactivación lenta a potenciales más negativos (Figura 1B), es decir, la lacosamida desplaza la curva de tensión de la inactivación lenta para los canales de sodio a potenciales más hiperpolarizados. Por lo tanto, al potencial de estado estacionario dado, la cantidad de canales de sodio que están disponibles para la activación es reducido por la lacosamida.

Los siguientes efectos de la lacosamida sobre los canales de sodio se identificaron en las neuronas corticales de rata, células N1E-115 y de los ovocitos de Xenopus:

- La lacosamida no modulaban la transmisión sináptica en condiciones fisiológicas normales.
- La lacosamida atenúa indiscriminadamente la velocidad de tráfico sináptico en las neuronas cultivadas de manera estereoselectiva y dependiente de la concentración.
- La frecuencia de los potenciales postsinápticos excitatorios en miniatura no es reducida por la lacosamida.
- La lacosamida no produjo ningún efecto sobre las conductancias en reposo.
- La lacosamida no bloqueó las descargas repetitivas sostenidas.
- La lacosamida inhibe el estallido prolongado lento en las neuronas corticales.
- La lacosamida inhibe la descarga repetitiva sostenida prolongada en los potenciales de acción.
- La lacosamida no desplaza las curvas de voltaje de inactivación rápida en estado estacionario.
- La lacosamida no cambia la velocidad de la inactivación rápida del canal de sodio.

- La tasa de recuperación de los canales de sodio del estado inactivado lentamente no disponible no se cambia.

En resumen, estos experimentos demuestran que la lacosamida potencia selectivamente la inactivación lenta de los canales de sodio regulados por voltaje, dejando la inactivación rápida normal. Esto constituye un nuevo mecanismo de acción que puede normalizar de manera eficiente la función excesiva del canal de sodio como, por ejemplo, se ha visto en canales mutados.

En particular, por su efecto sobre la inactivación lenta de los canales de sodio, la lacosamida es adecuada para la prevención, alivio y/o tratamiento de enfermedades asociadas con la hiperexcitabilidad. Además, por su efecto sobre la inactivación lenta de los canales de sodio, la lacosamida es adecuada para la prevención, alivio y/o tratamiento de enfermedades asociadas con la disfunción lenta de un canal iónico.

Ejemplo 2: La lacosamida en un modelo animal para la ansiedad inducida por estrés

En este estudio se han ensayado los efectos de la lacosamida en un modelo animal para la ansiedad relacionada con el estrés. En este modelo animal, el estrés se induce por la medición de la temperatura rectal. El ensayo de hipertermia inducida por estrés (SIH) se basa en el principio de que los ratones tienen una respuesta hipertérmica natural al estrés, lo que se refleja en el nivel de ansiedad inducida por estrés. Los efectos de la lacosamida en este modelo se compararon con los del compuesto de referencia clordiazepóxido (CDP), que se usó clínicamente como tratamiento ansiolítico de primera línea. Además, se utilizó como compuesto de referencia adicional el nuevo fármaco anticonvulsivo pregabalina que también se desarrolla para el trastorno de ansiedad generalizada.

Pacientes y Métodos

Se usaron en este estudio ratones adultos macho 129SVEV (8 semanas de edad) de los Laboratorios Taconic (Germantown, NY). Los animales fueron alojados en jaulas estándar de policarbonato con las tapas agujereadas. Se alojaron cuatro animales por jaula y se proporcionó agua y comida a discreción durante el tiempo del estudio excepto que se indique otra cosa. Antes del inicio del estudio, se examinaron los animales para asegurarse de una adecuada salud e idoneidad; los animales también fueron manipulados dos días antes del ensayo para minimizar el estrés no específico asociado con el ensayo. Los ratones se mantuvieron en un ciclo de luz/oscuridad 12/12 con la luz encendida a las 6:00 a.m. Se mantuvo la temperatura ambiente entre 20 y 23°C con una humedad relativa mantenida entre 30% y 70%.

Se disolvió clordiazepóxido (CDP 10 mg/kg; número de lote 94H1023, Sigma) en agua estéril. Se disolvieron en una disolución salina lacosamida (número de lote WE11837 (537.1008,SIFA)) y pregabalina (número de lote HS3730). Todos los fármacos se administraron i.p. 60 min antes del ensayo.

El ensayo implicaba dos medidas de temperatura rectal repetidas en el mismo animal con un intervalo de 10 minutos. El día antes del ensayo, los ratones se llevaron a la habitación de experimentación una hora antes de que las luces programadas se apagaran y se les dejó solos por la noche con agua y comida a discreción. La mañana del experimento, a los animales se les inyectó primero disolución salina, CDP (10 mg/kg) o lacosamida (3, 10 o 30 mg/kg). Una hora después de la inyección, se sacó cada animal de la jaula de mantenimiento y se mantuvo en posición supina y se midió su temperatura rectal insertando lentamente una sonda rectal en el recto del animal a una longitud de aproximadamente 0,5 cm. La sonda rectal está unida a un termómetro digital PhysiTemp (Fisher Scientific) que proporciona lecturas de temperatura con una precisión de 0,1°C. La probeta permaneció dentro del animal durante aproximadamente 5 segundos o hasta que la temperatura corporal alcanzó la estabilidad. Esta temperatura se registró como la temperatura rectal de línea de base (T1). El animal se llevó inmediatamente de vuelta a la jaula de mantenimiento y después de un intervalo de 10 min se tomó la 2ª temperatura rectal (T2) usando el mismo procedimiento que en la medición de T1. Después de completar las dos mediciones de temperatura rectal, el animal se llevó de vuelta a la jaula hogar y después se llevó de vuelta a la habitación colonia. Antes de cada inserción, la sonda rectal se limpió con un algodón de alcohol y se lubricó con gelatina estéril K-Y. Todos los estudios SIH se realizaron entre 8:00 - 11:00 a.m.

Todos los datos se analizaron usando un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) seguido de análisis post hoc PLSD de Fisher. Se eliminaron los valores atípicos por encima y por debajo de 2 desviaciones estándar de la media para el análisis final.

Resultados

El ANOVA unidireccional encontró que el tratamiento tenía un efecto significativo. El análisis post hoc PLSD de Fisher reveló que el compuesto de referencia CDP (10 mg/kg) disminuía significativamente la temperatura del ratón en comparación con el ratón tratado con disolución salina (Figura 2). De forma similar, a dosis de 3 y 10 mg/kg, la lacosamida atenúa significativamente la SIH en comparación con la disolución salina (Figura más abajo). No se encontraron efectos significativos de la pregabalina o lacosamida (30 mg/kg) en la SIH.

55

Conclusión

La lacosamida es eficaz en este modelo animal para la ansiedad inducida por estrés. Así, los compuestos de la presente invención, en particular la lacosamida, son adecuados para la prevención, alivio, o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la hiperexcitabilidad, tal como ansiedad o estrés.

5 **Ejemplo 3**

El foco del presente estudio era el análisis de los efectos potenciales neuroprotectores de la lacosamida en cultivos de secciones del hipocampo de ratas después de exposición a glutamato (Glut) como un modelo para el daño excitotóxico. La lacosamida se administró 2h antes de la agresión y estuvo presente hasta el fin del experimento a 24h después de la agresión. El análisis cuantitativo de la muerte necrótica celular se realizó mediante absorción de yoduro de propidio (PI) (muerte celular neuronal en el área CA1-CA3) y la liberación de lactato deshidrogenasa (LDH) (muerte celular en la sección completa). La lacosamida mostraba un efecto protector frente a la muerte necrótica celular después de Glut. Debido a los efectos neuroprotectores encontrados en este estudio, se prevé que la lacosamida es eficaz para el tratamiento de los trastornos asociados con las agresiones excitotóxicas.

Métodos experimentales

15 **Sistema de modelo: Cultivos organotípicos de secciones del hipocampo (OHC).** Los cultivos organotípicos de secciones y entre ellos, los cultivos de secciones del hipocampo, representan modelos in vitro que mantienen los diferentes tipos de células y retienen la compleja organización tridimensional del tejido nervioso. Debido a que los OHC combinan la accesibilidad/velocidad de un sistema in vitro y la estructura 3-D retenida del tejido respectivo encontrado in vivo, representan un excelente sistema modelo para la evaluación rápida de los efectos de los compuestos sobre la proliferación/diferenciación celular en el CNS. Los OHC reducen enormemente el número de animales experimentales y el tiempo necesario. Además, son perfectamente adecuados para detectar los efectos relacionados con el metabolismo, los mecanismos farmaco-tóxicos e incluso para evaluar los efectos de la función global.

Modelo de lesión

25 Se prepararon cultivos de interfase de OHC de 7-8 semanas según Stoppini et al. (1991, J Neurosci Methods, 37(2):173-82). Se obtuvieron OHC (secciones de 400µm de espesor) de animales jóvenes (ratas; día postnatal 7-9); para los primeros 2 días los cultivos se mantuvieron en medio suplementado con 25% de suero de caballo para facilitar la recuperación. Después de eso se usó medio sin suero (Neurobasal) durante el experimento. Los cultivos sin suero son más adecuados para el análisis de los factores aplicados exógenamente ya que se excluyen los efectos no deseados de los componentes del suero. En cultivos de 11d se incubaron con 2,5 M PI durante 12 h seguido de la pre-selección para asegurarse de que solo se usasen en los experimentos las secciones de alta calidad (sin absorción de PI, sin daño anatómico). Después de 12 d los OHC se trataron con lacosamida (1, 10 y 100 µM), un vehículo de control (DMSO) y una sustancia de referencia 2 h antes de la agresión. 24h después del comienzo de la agresión se analizaron los cultivos. Los OHC se expusieron de forma continua a la lacosamida desde 2 h antes hasta 24 h después de la agresión neurológica. Así, la lacosamida estaba presente durante todas las etapas del ensayo.

El glutamato induce muerte celular excitotóxica (necrótica y apoptótica) actuando sobre los todos los subtipos del receptor del glutamato: receptores de kainato, NMDA y AMPA. El OHC se trató con lacosamida o bien una de las dos sustancias neuroprotectoras de referencia - el antagonista de NMDA MK-801 (10 µM) o el bloqueante del canal de Na TTX (1 µM). dos horas después de esto, el OHC se sometió a agresión excitotóxica mediante administración de glutamato 15mM durante 24h.

Evaluación cuantitativa de daño

45 **Absorción de PI (Necrosis) - Evaluación de daño neuronal.** 22 h después de la agresión respectiva, los cultivos se tiñeron con yoduro de propidio (PI) durante 2 h (absorción/incorporación de PI sirve como un marcador de la degeneración celular). Las imágenes fluorescentes se adquirieron de forma semi-automática (etapa motorizada Nikon; programa informático LUCIA) y se analizaron mediante densitometría para cuantificar la muerte necrótica celular (programa informático de análisis de imágenes LUCIA). El daño se analizó solo en el área CA (CA1-CA2-CA3) representando así el daño neuronal. El tinte de PI se probó que no era adecuado para el análisis fiable de la muerte celular en el AD. Para combinar los datos de los experimentos individuales se estableció el valor medio densitométrico de la agresión respectiva de un experimento individual al 100% de daño. Todos los demás datos se dan en % de daño por agresión.

55 **Liberación LDH (Necrosis) - Evaluación de la muerte celular general.** Las muestras de medio para este análisis se obtuvieron de los mismos cultivos usados para los estudios de absorción de PI. 24 h después de la agresión se recogieron alícuotas del medio de cultivo celular (1 pocillo es comparte con 2-3 secciones), se congelaron y se mantuvieron a 4°C. Se realizó el análisis de la muestra subsiguiente de la actividad LDH usando el ensayo de citotoxicidad colorimétrico CytoTox96® (Promega Corp). Las medias se realizaron en un lector Magellan Plate (492nm vs. 620 nm). Este ensayo detecta la liberación de LDH de todas las células dañadas, representando así una

evaluación de la muerte celular general en el cultivo de las secciones. Para combinar los datos de los experimentos individuales se estableció el valor medio de la agresión respectiva de un experimento individual al 100% de daño. Todos los demás datos se dan en % de daño por agresión.

5 Montaje experimental y área de análisis. El d 12 se seleccionaron in vitro rebanadas solo de alta calidad y se trataron con lacosamida (1, 10 y 100 μ M) 2 h antes del comienzo de la agresión. La lacosamida estaba presente desde 2 horas antes hasta 24 horas después del comienzo de la agresión. 24h después de la agresión el ensayo terminó y se usaron los cultivos para el análisis: 1) Las muestras de medio de cultivo se obtuvieron para la medida de la liberación de LDH. 2) La absorción PI se analizó en los cultivos. Se evaluó el daño neuronal mediante cuantificación densitométrica de la absorción de PI en el área CA1 y CA3. En todas las figuras las barras de error indican la desviación estándar. Se analizaron los datos mediante ANOVA unidimensional seguido de ensayo post-hoc de comparación múltiple por parejas de Tukey. La significancia estadística se define como * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, o *** $p < 0,001$.

Resultados

Efectos de la lacosamida después de la agresión con glutamato (Glut)

15 **Daño Neuronal.** Evaluado mediante análisis densitométrico de absorción de PI la lacosamida tenía un efecto estadísticamente significativo en el daño neuronal en todos los subcampos CA (CA1, CA2, CA3 combinado) 24 h después de Glut (Fig. 3). Esto era cierto para las tres concentraciones de lacosamida ensayadas ($p < 0,01$ S1 vs. Glut; $p < 0,001$ S2 y S3 vs. Glut). La sustancia de referencia MK-801 (10 μ M) proporcionaba protección suficiente frente al daño neuronal inducido por Glut ($p < 0,001$ para MK-801 vs. Glut). La segunda sustancia de referencia Tetrodotoxina (1 μ M TTX) mostraba también un efecto neuroprotector después de Glut ($p < 0,01$; TTX vs. Glut). La extensión de la neuroprotección mediada por lacosamida era similar a la de TTX pero menor que la de MK-801.

20 **Daño Global.** Evaluado mediante medida colorimétrica de la liberación de LDH, la lacosamida tenía un efecto estadístico significativo sobre el daño global 24 h después de Glut (Fig. 4). Esto era cierto para las tres concentraciones de lacosamida ensayadas ($p < 0,01$ S1 y S3 vs. Glut; $p < 0,001$ S2 vs. Glut). La sustancia de referencia MK-801 (10 μ M) proporcionaba protección suficiente frente al daño celular inducido por Glut ($p < 0,001$ para MK-801 vs. Glut). La segunda sustancia de referencia Tetrodotoxina (1 μ M TTX) mostraba también un efecto protector después de Glut ($p < 0,01$; TTX vs. Glut). La extensión de la protección celular mediada por lacosamida era similar a la de TTX y MK-801.

Discusión y conclusiones

30 Este estudio se diseñó para investigar los efectos protectores potenciales de la lacosamida después de una agresión neurológica in-vitro. Como criterios de valoración se utilizaron dos lecturas diferentes: El daño necrótico neuronal específico en la región CA se cuantificó mediante análisis densitométrico de la absorción de PI y el daño necrótico celular en general se evaluó por la medición de la liberación de LDH de toda la sección.

35 Los altos niveles de glutamato (Glut) causaron la muerte celular necrótica neuronal masiva (CA1 más afectadas que CA3). La administración del antagonista de NMDA MK-801 redujo el daño neuronal por ap. 80% y daño global por ap. 50 %. Esto indica que MK-801 proporcionaba protección a las neuronas pero no a las células gliales. El bloqueantes del canal de Na TTX proporcionaba ap. 50% de reducción del daño neuronal y ap. 20-40% de reducción del daño general. La lacosamida mostraba un efecto protector significativo sobre el daño necrótico general y neuronal (CA1 y CA3) después de Glut. La lacosamida redujo significativamente la necrosis inducida por Glut mediante ap. 40-50% y daño global por ap. 30-40%. Según estos datos la lacosamida parece tener un efecto anti-necrótico en un modelo de agresión excitotóxica (Glut).

Así, los compuestos de la presente invención, en particular lacosamida, pueden ser adecuados en la prevención, alivio o/y tratamiento neuroprotector, en particular en una enfermedad neurodegenerativa o/y enfermedad psicótica.

Ejemplo 4

45 Se ha observado en diferentes sistemas celulares el desplazamiento inducido por la lacosamida de la curva de voltaje de inactivación lenta a potenciales de membrana más hiperpolarizados (ver Fig. 1 B) y/o el aumento de la fracción de los canales de sodio inactivados lentos. La figura 5A muestra este desplazamiento pronunciado de la curva de voltaje en los oocitos de *Xenopus* que expresan la subunidad alfa del canal de sodio de tipo II de rata ($Na_v 1.2$) en presencia de lacosamida 100 μ M. En los ganglios de la raíz dorsal de rata la lacosamida 100 μ M aumentó notablemente la inactivación lenta de las corrientes de sodio resistentes a TTX (Fig. 5B). Aunque la lacosamida (100 μ M) aumentó significativamente la fracción de los canales de sodio inactivados lentamente con un pulso despolarizado de 10 s, la vida media para la recuperación de canal (T) no se cambió significativamente (Fig. 5C).

REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Uso de lacosamida para la preparación de una composición farmacéutica para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad que es una canalopatía asociada con una disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje, en donde la enfermedad es un síndrome epiléptico seleccionado del grupo de epilepsia generalizada con convulsiones febriles plus (GEFS+), la epilepsia mioclónica grave infantil (SMEI), convulsiones infantiles neonatales familiares benignas (BNIFS), la epilepsia infantil intratable con convulsiones tónico-clónicas generalizadas (ICEGTC) y los espasmos infantiles (síndrome de West).
- 2.** Uso según la reivindicación 1, en donde la enfermedad es GEFS+
- 3.** Uso según la reivindicación 1, en donde la enfermedad es el síndrome de West.
- 10 **4.** Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica se prepara para el tratamiento con dosis del compuesto de al menos 100 mg/día, preferiblemente al menos 200 mg/día, más preferiblemente al menos 300 mg/día, aún más preferiblemente al menos 400 mg/día.
- 15 **5.** Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica se prepara para el tratamiento con dosis del compuesto de un máximo de 1 g/día, preferiblemente a un máximo de 800 mg/día y lo más preferiblemente a un máximo de 600 mg/día.
- 6.** Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica se prepara para administración oral, rectal o i.v..
- 7.** Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica se prepara para administración oral.
- 20 **8.** Uso según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde la composición farmacéutica comprende
- (a) lacosamida, y
- (b) al menos un agente activo adicional para la prevención, alivio o/y tratamiento de una enfermedad asociada con la disfunción de un canal de sodio regulado por voltaje según la reivindicación 1.
- 25 **9.** Uso según la reivindicación 8, en donde lacosamida y el compuesto (b) están presentes en formas de dosificación separadas.

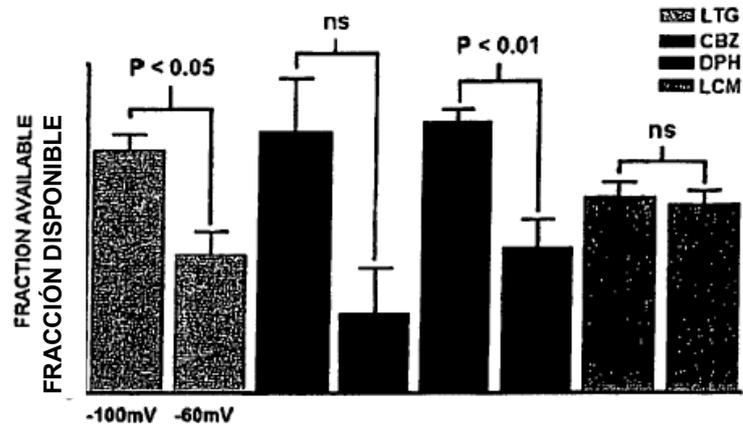


Figura 1 A

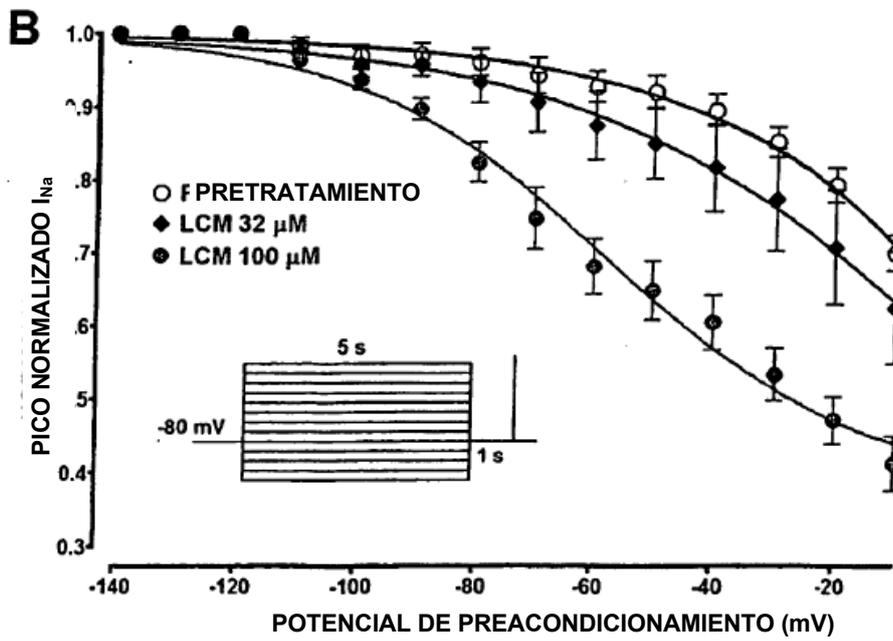


Figura 1 B

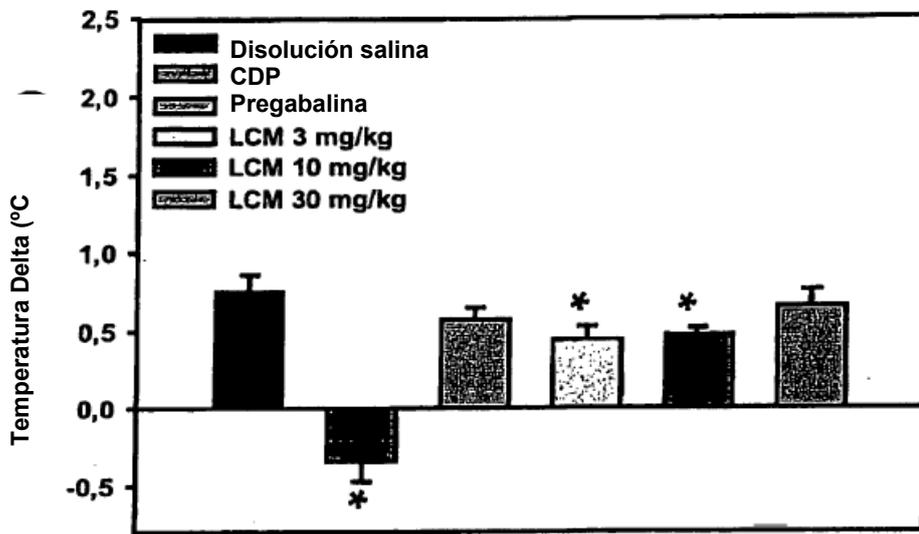


Figura 2

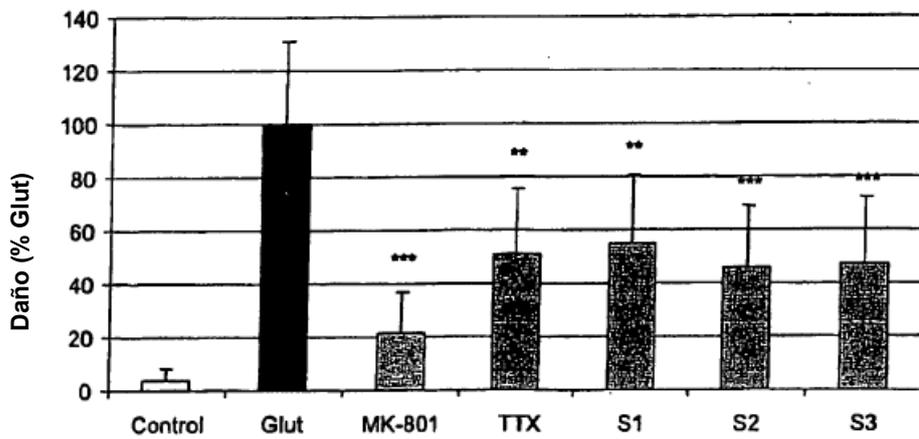


Figura 3

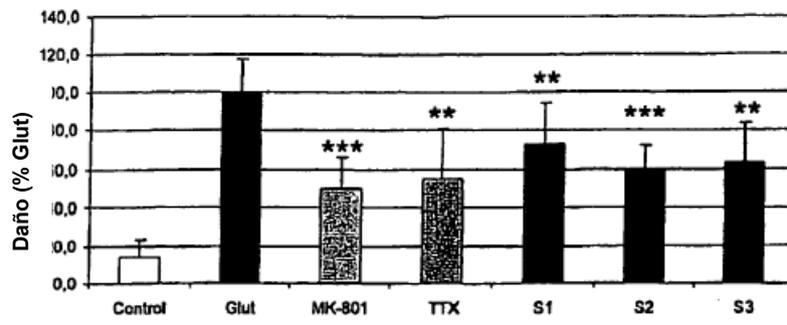


Figura 4

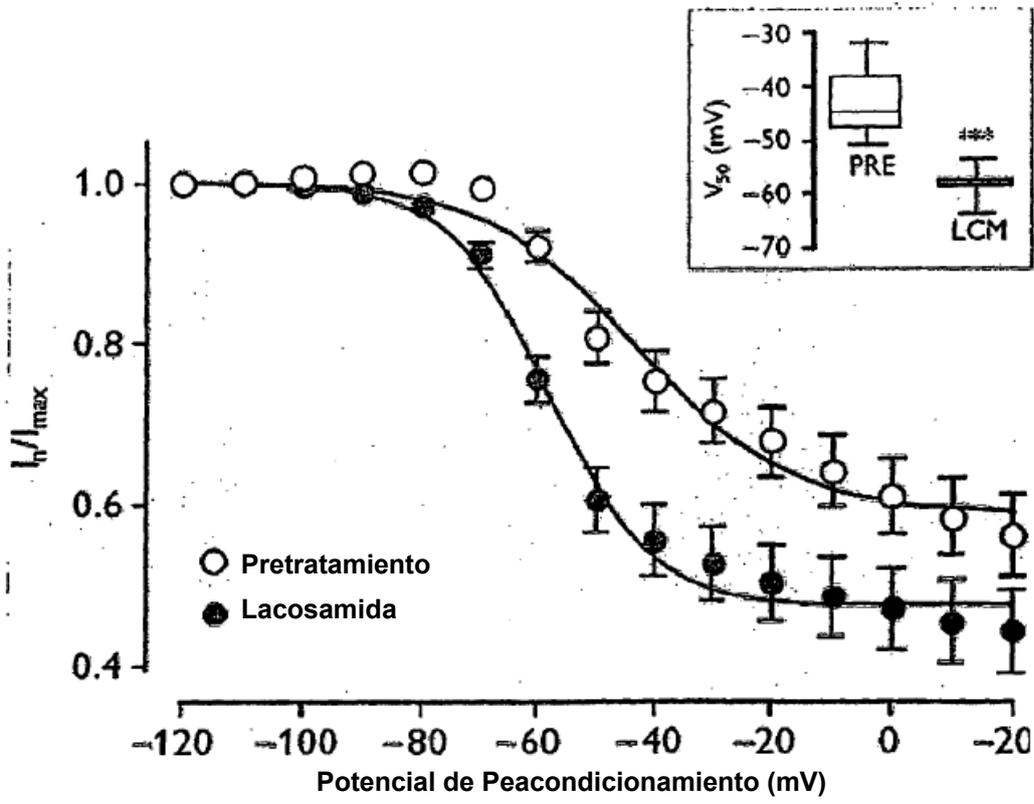


Figura 5A

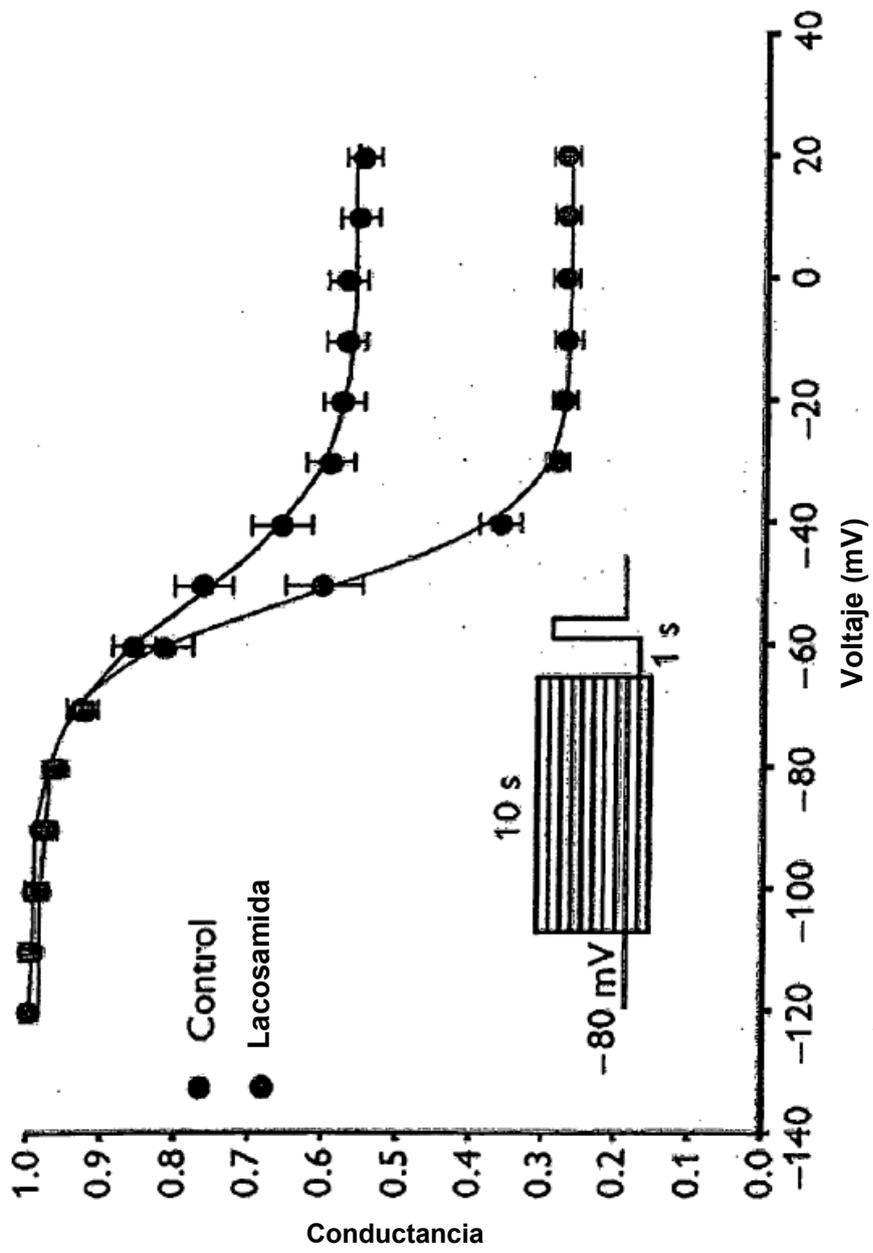


Figura 5B

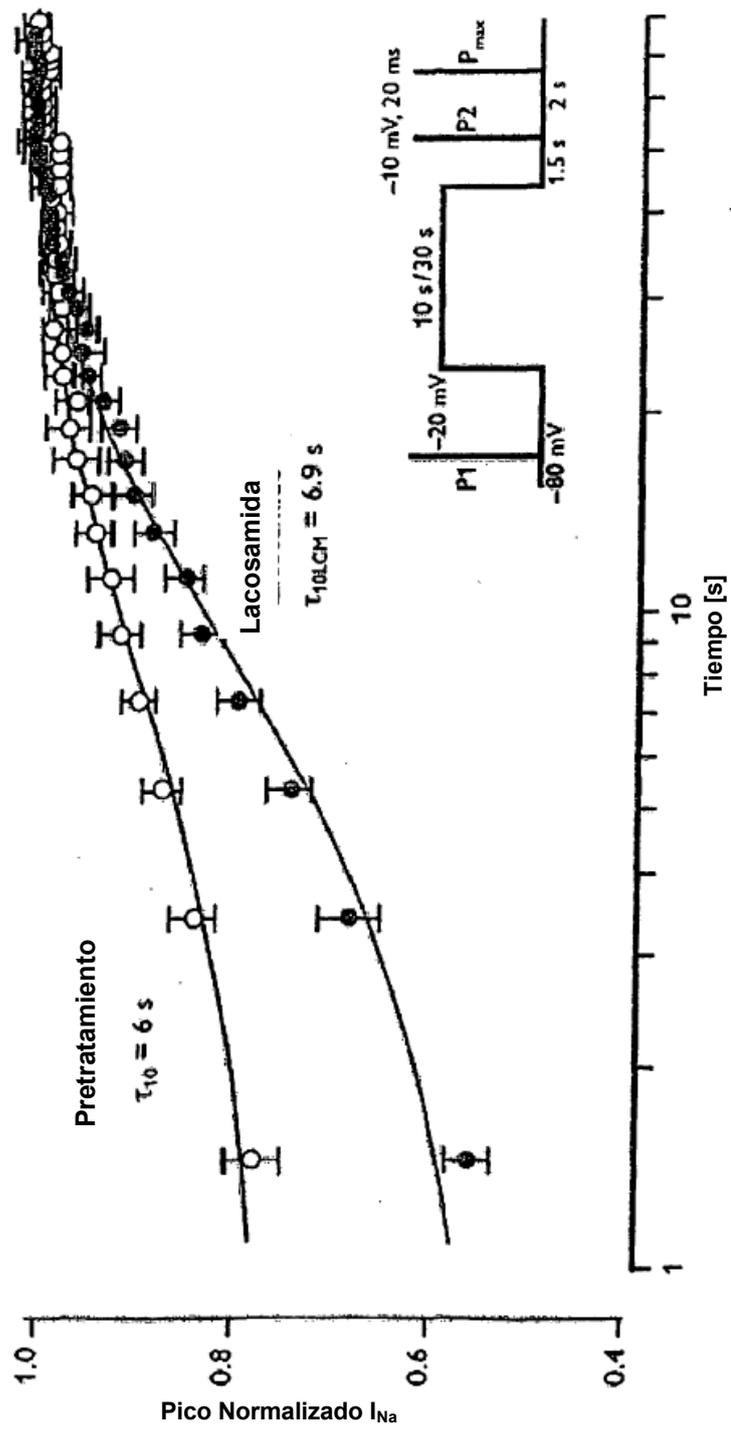


Figura 5C