

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 590 259**

51 Int. Cl.:

A61K 31/7004 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)
A61P 25/06 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.06.2005 PCT/US2005/021845**
 87 Fecha y número de publicación internacional: **05.01.2006 WO06002121**
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.06.2005 E 05787694 (8)**
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.07.2016 EP 1885379**

54 Título: **Compuestos y procedimientos para el tratamiento de convulsiones y trastornos paroxísticos**

30 Prioridad:

17.06.2004 US 580436

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
21.11.2016

73 Titular/es:

**WISCONSIN ALUMNI RESEARCH FOUNDATION
 (100.0%)
 P.O. BOX 7365
 MADISON, WI 53707-7365, US**

72 Inventor/es:

**KRIEGLER, STEVEN, M.;
 ROOPRA, AVTAR, S.;
 SUTULA, THOMAS, P. y
 STAFSTROM, CARL, E.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 590 259 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

Compuestos y procedimientos para el tratamiento de convulsiones y trastornos paroxísticos

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a compuestos para su uso en aliviar la epilepsia o convulsiones en un humano adulto o en uno joven. Particularmente, la invención se refiere a aliviar la epilepsia, modulando la glicólisis en las células cerebrales mientras mantiene la integridad metabólica de las mismas. La invención se refiere, específicamente, a compuestos antiglicolíticos tales como 2-desoxi-D-glucosa (2-DG) y definidos en el presente documento para su uso como agentes anticonvulsivos y antiepilépticos para el tratamiento de ataques, epilepsia y convulsiones.

Antecedentes de la invención

10 Las funciones del sistema nervioso central pueden verse afectadas por diversas alteraciones paroxísticas que incluyen convulsiones, síncope, dolor, migraña e isquemia transitoria. Las células nerviosas de la función cerebral en una manera muy compleja, pero organizada. Una interrupción temporal repentina de alguna o todas las funciones de las células nerviosas da como resultado un "ataque". Cada individuo tiene un "umbral de ataques" o nivel de resistencia a los ataques: este umbral varía de una persona a otra, muy probablemente debido a su composición genética y otros factores de desarrollo (Stafstrom, 1998, *Pediatrics in Review* 19: 335-344).

15 Una persona con una tendencia a tener ataques repetidos puede estar sufriendo de epilepsia. Epilepsia es un término genérico para una afección neurológica grave común que afecta a uno de cada 200 adultos y a uno de cada 100 niños (Hauser y Hersdorffer, 1990, *EPILEPSY: FREQUENCY, CAUSES AND CONSEQUENCES*, Nueva York: Demos). La epilepsia se define por episodios recurrentes de ataques, que son breves alteraciones conductuales involuntarias causadas por descargas eléctricas intensas paroxísticas en el cerebro. Las causas de la epilepsia son heterogéneas e incluyen una diversa variedad de factores genéticos, metabólicos, de desarrollo, traumáticos, neoplásicos, y etiologías vasculares que pueden presentarse en cualquier momento desde el nacimiento hasta la senectud.

20 El diagnóstico de la epilepsia se basa en el criterio clínico, y puede estar apoyado por el electroencefalograma, y en algunos casos, por IRM y análisis de sangre. Los ataques pueden ser considerados como manifestaciones sintomáticas de la etiología o patología subyacente. La epilepsia a veces se puede mejorar tratando directamente la etiología subyacente, pero medicamentos anticonvulsivos, como fenitoína, gabapentina, lamotrigina, felbamato y topiramato, y otros, que suprimen las descargas eléctricas anormales y los ataques, son la base del tratamiento convencional (Rho y Sankar, 1999, *Epilepsia* 40: 1471-1483). Los fármacos anticonvulsivos actualmente disponibles son eficaces en la supresión de los ataques en aproximadamente el 50 % de los pacientes, son moderadamente eficaces y reducen los ataques en otro 30-35 %, y son ineficaces en el 15-20 % restante de los pacientes. Los mecanismos de acción de los fármacos anticonvulsivos utilizados en la actualidad son complejos y en su mayor parte dudosos, pero los modos generales comunes de acción anticonvulsiva incluyen el antagonismo de la función canal del ion sodio (Na^+) (que modifica la descarga neuronal dependiente del uso repetitivo), y modificaciones en la transmisión sináptica mediada por el ácido γ -aminobutírico y glutamato (que alteran favorablemente el equilibrio de excitación e inhibición en los circuitos neuronales). Estos fármacos son también eficaces para el tratamiento de otros trastornos paroxísticos que incluyen síncope, síncope convulsivo, migraña, dolor neuropático, y afecciones neuropsiquiátricas con alteraciones conductuales paroxísticas o intermitentes, que incluyen trastornos bipolares, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad, trastornos de estrés, y trastornos de los impulsos. Además, los anticonvulsivos proporcionan también neuroprotección y reducen el tamaño del infarto en modelos experimentales de accidente cerebrovascular e isquemia.

45 La neurocirugía es una modalidad de tratamiento alternativo en una pequeña proporción de personas para las que el tratamiento farmacológico no es eficaz. Los pacientes que continúan teniendo ataques recurrentes a pesar del tratamiento con los medicamentos actuales (~50 % de pacientes) son considerados como médicamente intratables, y un subgrupo de estos pacientes muestran características progresivas tales como aumento de la frecuencia de los ataques y el deterioro cognitivo. Los pacientes con epilepsia intratable médicamente son generalmente considerados para el tratamiento de resección quirúrgica, que puede ser curativa cuando puede identificarse una lesión irritativa localizada. Sin embargo, ciertos pacientes con epilepsia intratable no son candidatos para el tratamiento quirúrgico debido a la existencia de múltiples lesiones irritativas en estos pacientes. Esto es especialmente cierto para los niños, para los que hay un subgrupo que no responde bien a los medicamentos antiepilépticos. Para dichos pacientes, una modalidad terapéutica alternativa es la dieta, concretamente una dieta alta en grasas conocida como la "dieta cetogénica." En muchos casos, la dieta cetogénica puede producir una supresión eficaz y, a veces, drástica de las ataques y mejoras en la función cognitiva.

55 La dieta cetogénica se ha empleado durante décadas en niños con epilepsia que no han respondido adecuadamente a la terapia médica con anticonvulsivos convencionales (Wilder, 1921, *Mayo Clinic Proceedings* 2: 307-308; Freeman y col., 1998, *Pediatrics* 102: 1358-1363). La acción anticonvulsiva de la dieta, que obtiene calorías de una ingesta rica en grasas con muy bajo o ningún contenido en hidratos de carbono y solo las proteínas adecuadas para el crecimiento, está asociada con la cetosis y la producción de cetonas β -hidroxibutirato y acetoacetato. La dieta

5 cetogénica puede ser significativamente eficaz y disminuir los ataques en un importante subgrupo de pacientes con epilepsia grave, pero la comprensión de cómo la dieta produce efectos anticonvulsivos ha sido limitada. Una de las características notables de la dieta cetogénica es que el efecto anticonvulsivo se desarrolla durante un período de al menos días a semanas después de comenzar la dieta, pero se pierde rápidamente con la ingesta de incluso

10 A pesar de su general eficacia, el tratamiento de pacientes con la dieta cetogénica, en particular los niños, tiene varios inconvenientes. El comienzo de la dieta requiere normalmente hospitalización durante hasta una semana, y los efectos y beneficios de la dieta (es decir, la disminución de los ataques) no se experimentan, normalmente, de forma inmediata, retrasándose de una semana a tres meses desde que se inicia la dieta. El mantenimiento de la dieta es difícil, ya que requiere un equilibrio de nutrientes como una relación especial (normalmente 3:1 a 4:1 de grasas frente a todos los demás nutrientes) y la ingesta de incluso una cantidad mínima de hidratos de carbono

15 puede eliminar los beneficios de la dieta de aliviar los ataques. Los efectos secundarios de la dieta en sí incluyen náuseas, vómitos, estreñimiento, depresión, somnolencia, letargo, irritabilidad, disminución de la lucidez mental, cálculos renales, aumento de peso, aumento del colesterol sérico y acidosis (Ballaban-Gil y col., 1998, *Epilepsia* 39: 744-748). Además, la dieta tiene una eficacia limitada en adultos, y puede ser aún más difícil de poner en práctica con niños que son alérgicos a los productos lácteos.

20 Rejdak K y col., en *Epilepsy Research*. Mar. 2001, vol. 43, n.º 3, marzo de 2001 (2001-03), páginas 271-278, XP008056672 ISSN: 0920-1211 evalúan la influencia del tratamiento crónico con 2-DG en la tolerancia epiléptica a largo plazo provocada por el grapado bilateral de la arteria carótida (BCCA) en ratones.

25 Lee y col., en *Journal of Neuroscience Research*, 57(1), 48061 Coden: Jnredk; ISSN: 0360-4012, 199, XP008056805 sugieren que la 2-DG puede ser neuroprotectora en el hipocampo cuando se administra antes de tratar a los animales de experimentación con cainita y neurotoxina.

Zhi Hong Guo y col., en *Experimental Neurology* 2000 United States, vol. 166, n.º 1, 2000, páginas 173-179, XP 008056810 ISSN: 0014-4886 enseñan que *in vivo* la administración de 2-DG preserva el transporte de glucosa y glutamato y la función mitocondrial en los terminales sinápticos corticales después de la exposición al péptido β -amiloide e hierro en pacientes con la enfermedad de Alzheimer.

30 Duan y col., en *Journal of Neuroscience Research*, 57(2), 195-206 Coden: Jnredk; ISSN 0360-4012, 1999, SP008056807 comenta la restricción dietética y la administración de 2-DG en la disminución de la degeneración de las neuronas dopaminérgicas en pacientes con la enfermedad de Parkinson.

35 Así, en esta técnica hay una necesidad de desarrollar procedimientos y compuestos para el tratamiento de la epilepsia, especialmente la epilepsia médicamente intratable utilizando alternativas a los fármacos antiepilépticos disponibles en la actualidad y a la neurocirugía. También hay una necesidad de desarrollar procedimientos dietéticos terapéuticamente eficaces distintos de la dieta cetogénica que sean más fáciles de poner en práctica y mantener y que tengan menos efectos secundarios y consecuencias menos graves en caso de incumplimiento.

Sumario de la invención

40 Esta invención proporciona una cantidad eficaz de un compuesto antiglicolítico elegido de 2-desoxiglucosa, 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa, donde *n* = 3-5, *n,m* desoxi-D-glucosa, donde *n* = 2-5 y *m* = números enteros de 2-5 excluido el *n*, para su uso en el tratamiento o prevención de epilepsia o convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven.

45 La invención abarca además el uso de un compuesto antiglicolítico elegido de 2-desoxiglucosa, 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa, donde *n* = 3-5, *n,m* desoxi-D-glucosa, en la que *n* = 2-5 y *m* = números enteros de 2-5 excluido el *n*, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o prevención de epilepsia o convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven.

50 Preferiblemente, el trastorno es epilepsia, lo más preferiblemente epilepsia médicamente refractaria o resistente a los fármacos. En una realización preferida, la frecuencia de los ataques u ocurrencia se reducen en aproximadamente un 50 %, más preferiblemente en aproximadamente un 75 % y más preferiblemente en aproximadamente un 95 %.

En ciertas realizaciones adicionales, el uso como se define en la invención reduce estallido sincrónico epiléptico en las células neuronales y, en las laminillas de cerebro. En estas realizaciones, los usos comprenden la etapa de poner en contacto las células con una cantidad eficaz del compuesto antiglicolítico.

55 La invención proporciona también composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento o prevención de epilepsia o convulsiones en un humano adulto o en uno joven, que comprende 2-desoxiglucosa o derivados de la misma que se transforman a 2-DG en un animal, o compuestos relacionados de glucosa desoxi-sustituída, tal como 3-desoxi-D-

glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa (donde $n = 3-5$), compuestos diseñados mediante permutaciones de la fórmula *n,m* desoxi-D-glucosa (donde $n = 2-5$ y $m =$ números enteros de 2-5 excluido el n). Las composiciones farmacéuticas de la invención se proporcionan formuladas con excipientes farmacéuticamente aceptables, adyuvantes, u otros componentes adaptados al modo de administración, incluidos pero no limitados a las rutas de administración oral, parenteral y tópica.

Los usos de la invención son ventajosos debido a que implican la administración de compuestos que son menos tóxicos o que tienen menos o más leves efectos secundarios que los fármacos anticonvulsivos y antiepilépticos utilizados actualmente para tratar los trastornos convulsivos. Los usos de la invención también son ventajosos en comparación con los procedimientos dietéticos, tales como la dieta cetogénica conocida en la técnica anterior, debido a la facilidad de poner en práctica, el más fácil y más probable cumplimiento con su administración, menos oportunidades de evitar o desatender el cumplimiento del tratamiento, menor impacto sobre los niveles de lípidos y de colesterol séricos, menor aumento de peso, eficacia más inmediata, y facilidad de control. Los usos de la invención son ventajosos en comparación con la neurocirugía en que son menos invasivos y menos irreversibles.

Las realizaciones preferidas específicas de la presente invención llegarán a ser evidentes de la siguiente descripción más detallada de ciertas realizaciones preferidas y de las reivindicaciones.

Descripción de los dibujos

Por referencia a los dibujos se facilita una comprensión de la invención.

La Figura 1 es un diagrama esquemático de una parte de las reacciones químicas y mediadores enzimáticos de las mismas que aparecen en la glicólisis en una célula de mamífero, que muestra inhibición de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa mediante la 2-DG.

Las Figuras 2A a 2C ilustran los efectos de 2-DG sobre el umbral posdescarga (PD) y demuestra los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de 2-DG contra los ataques de activación progresiva. La Figura 2A ilustra los efectos de la 2-DG sobre el umbral posdescarga (PD) y demuestra efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de 2-DG contra los ataques de activación progresiva provocados por estimulación del bulbo olfatorio con trenes de 1 s de 62 hertzios a 1 ms. La Figura 2B ilustra los efectos de la 2-DG en el umbral de PD de ratas que experimentaron ataques de activación progresiva provocados por la estimulación de la vía perforante con trenes de 1 s de 62 hertzios a 1 ms, y demuestra que los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de la 2-DG no dependen del sitio de estimulación que provoca los ataques de activación progresiva. La Figura 2C demuestra que la 2-DG perjudica la progresión de la activación progresiva provocada por la estimulación de la vía perforante. En ratas tratadas con 2-DG en una dosis de 250 mg/kg por vía intraperitoneal (IP) a 30 minutos antes de la estimulación, se requirieron más ataques para alcanzar los hitos de ataques de las Clases III, IV y V. Esto demuestra que 2-DG es no sólo anticonvulsivo por aumentar el umbral (ataque) de PD, sino que también tiene efectos antiepilépticos por retrasar la progresión de la activación progresiva en respuesta a ataques repetidos.

La Figura 3 muestra el umbral PD de una rata que estaba inicialmente experimentando PD repetitivos a una intensidad de 1.500 μA . Después de la tercera PD provocada, se administró 2-DG a una dosis de 250 mg/kg por vía intraperitoneal (IP) antes de cada estimulación (indicado por la primera barra justo por encima del eje x), y pareció impedir la disminución progresiva en el umbral de PD que se observa normalmente con las PD repetidas provocadas por activación progresiva, que se considera como una medida de progresión. El tratamiento de 2-DG se detuvo después de 20 PD, después de un período de aproximadamente 8 semanas y ~40 PD adicionales, había una disminución gradual en el umbral de PD a ~200 μA . A continuación, se reinició la administración de 2-DG (indicado por la segunda barra justo por encima del eje x), y aumentó el umbral de PD a 1.500 μA durante un período de ~2-3 semanas.

Las Figuras 4A a 4C son trazos electrofisiológicos de descargas de ráfagas espontáneas sincronizadas en CA3 inducidas por el aumento de concentración de ion potasio (K^+) en laminillas de cerebro del hipocampo de rata. La Figura 4A muestra un registro de múltiples picos del campo extracelular de descargas epilépticas espontáneas mostradas a velocidades más lentas en las Figuras 4B y 4C. La frecuencia de la línea de base de las descargas epilépticas se ilustra en la Figura 4B, y la Figura 4C es la frecuencia después de la aplicación de baño de 2-DG 1 mM. Estos registros mostraron disminución de las ráfagas epilépticas por la aplicación del baño de 2-DG.

La Figura 5A a 5C son representaciones gráficas que muestran: (a) la trayectoria temporal de la acción anticonvulsiva de 2-DG frente a descargas de ráfagas en CA3, (b) los efectos anticonvulsivos prolongados de 30 minutos de baño aplicado de 2-DG, que persistió durante el lavado después de su retorno a ACSF normal, y (c) que la disminución en ráfagas epilépticas por 2-DG persiste cuando se proporciona lactato como una fuente alternativa de energía celular.

La Figura 6 es un trazo electrofisiológico de descargas de ráfagas espontáneas sincronizadas en CA3 inducidas por el aumento de $[\text{K}^+]_o$ en laminillas de cerebro del hipocampo de rata, e ilustra la disminución de ráfagas epilépticas por aplicación de baño de yodoacetato.

La Figura 7 es una representación gráfica que muestra que la disminución de ráfagas epilépticas mediante

yodoacetato persiste cuando se proporciona lactato como una fuente alternativa de energía celular.

La Figura 8 es una representación gráfica que muestra que la eliminación de glucosa y la sustitución por fuentes de energía alternativas tales como lactato o piruvato suprime las ráfagas sincronizadas en CA3, lo que confirma que la disminución de la glicólisis, en este caso mediante la eliminación de glucosa como sustrato, tiene efectos anticonvulsivos.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

La invención proporciona el uso de compuestos como los definidos para aliviar la epilepsia o las convulsiones en humanos y que incluyen niños que tienen epilepsia médicamente intratable. La invención se refiere a disminuir los ataques en un animal mediante la modulación de la glicólisis en las células cerebrales del mismo implicadas en provocar, iniciar o mantener el trastorno de los ataques. La invención implica concretamente la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto antiglicolítico al animal, en particular 2-desoxiglucosa o compuestos relacionados, tal como se establece en el presente documento, en una cantidad eficaz que tenga un efecto antiglicolítico en cerebros de animales epilépticos .

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "compuesto antiglicolítico" pretende abarcar compuestos que modulan el metabolismo de la glucosa, en particular en células cerebrales implicadas en el estallido epiléptico o sincronizado o en el cerebro de animales que sufren de epilepsia o convulsiones, preferiblemente seres humanos y lo más preferiblemente seres humanos adultos o jóvenes con epilepsia. El compuesto antiglicolítico utilizado en la invención es 2-desoxiglucosa, o derivados de la misma que se transforman en 2-DG, en un animal, o una relacionada desoxi-sustitución de la glucosa, tal como 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, combinaciones de otras desoxi-sustituciones de glucosa tal como 2,*n*-desoxi-D-glucosa (donde *n* = 3-5), compuestos diseñados por permutaciones de la fórmula *n,m* desoxi-D-glucosa (donde *n* = 2-5 y *m* = números enteros de 2-5 excluido el *n*). Más preferiblemente, el compuesto antiglicolítico utilizado en la invención es 2-desoxi-D-glucosa (2-DG).

La invención se refiere a trastornos convulsivos tales como espasmos infantiles, convulsiones mioclónicas y "motoras menores", así como convulsiones tónico-clónicas y convulsiones complejas parciales. En realizaciones preferidas, el trastorno convulsivo es epilepsia, incluidas la epilepsia idiopática, sintomática y criptogénica, y más preferiblemente la epilepsia resistente a fármacos o médicamente refractaria, es decir que los ataques epilépticos continúan a pesar de la administración adecuada de fármacos antiepilépticos.

Tal como se utiliza en el presente documento, el término "joven", en particular cuando se aplica a un paciente humano es un ser humano menor de 18 años de edad, más preferiblemente menor de 16 años de edad, más preferiblemente menor de 14 años de edad, más preferiblemente menor de 12 años de edad y lo más preferiblemente menor de 10 años de edad.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "dieta cetogénica" pretende describir dietas de bajo contenido en hidratos de carbono, de alto contenido en grasas utilizadas como una alternativa a la terapia con medicamentos para la epilepsia en niños. En la forma "clásica" de la dieta, las calorías se proporcionan desde alimentos intrínsecamente ricos en grasa, tales como crema, queso, mayonesa, mantequilla y aceite. En esta forma, la proporción de grasa frente a hidratos de carbono y proteína en la dieta es de aproximadamente 4:1 (en peso, lo que equivale a una relación de 9:1 en contenido calórico). En una forma alternativa, la dieta se complementa con triglicéridos de cadena media (TCM). La dieta cetogénica ha sido empleada durante décadas en niños con epilepsia que no han respondido adecuadamente a la terapia médica con anticonvulsivos convencionales. La acción anticonvulsiva de la dieta, que obtiene calorías de la ingesta rica en grasas y proteínas con muy poco o ningún contenido en hidratos de carbono, está asociada con la cetosis y la producción de las cetonas β-hidroxibutirato y acetoacetato. La dieta "cetogénica" puede ser significativamente eficaz y reducir los ataques en un subgrupo importante de pacientes con epilepsia grave, pero la comprensión de cómo la dieta produce los efectos anticonvulsivos es escasa. Una de las características notables de la dieta cetogénica es que el efecto anticonvulsivo se pierde rápidamente con la ingesta de pequeñas cantidades de hidrato de carbono. La mayoría de la investigación se ha centrado en el papel de los cuerpos cetónicos en el efecto antiepiléptico de la dieta, pero no han abordado la peculiaridad observada de que los efectos anticonvulsivos de la dieta se pierden rápidamente con la ingesta mínima de hidrato de carbono.

Tal como se utiliza en el presente documento, "los fármacos antiepilépticos" incluyen pero no se limitan a gabapentina (Neurontin), carbamazepina (Tegretol), etosuximida (Zarontin), lamotrigina (Lamictal), felbamato (Felbatol), topiramato (Topamax), zonisamida (Zonergran), tiagabina (Gabitril), oxcarbazepina (Trileptal), levetiracetam (Keppra), divalproex de sodio (Depakote), fenitoína (Dilantin), fosfenitoína (Cerebryx).

Tal como se utiliza en el presente documento, una "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto antiglicolítico se define como una cantidad que cuando se administra a un ser humano, más preferiblemente un ser humano que tiene epilepsia, disminuye la frecuencia, duración o gravedad de los ataques experimentados por el individuo. Las "cantidades eficaces" de dichos compuestos antiglicolíticos son aquellas dosis que producen concentraciones sub-nanomolares a milimolares de un compuesto tal como 2-desoxiglucosa en

sangre o plasma, y dependerá de la especie, farmacocinética y vía de administración. En ratas, una "dosis eficaz" de 2-DG es 250 mg/kg mediante administración intraperitoneal o subcutánea, pero también pueden ser eficaces dosis menores.

5 Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "integridad metabólica" se pretende que signifique que la célula es viable y metabólicamente activa, y, específicamente, no es apoptótica ni está metabólicamente deteriorada por la existencia en un entorno bajo en glucosa. El término, en particular, se pretende que signifique que se mantiene el balance energético de la célula y su capacidad para cumplir con sus requerimientos energéticos normales.

10 La glicólisis es la ruta metabólica para la obtención de energía a partir de glucosa, y se ilustra en la Figura 1. La utilización de la glucosa como fuente de energía requiere la entrada en la célula mediante transportadores de hexosas específicos, incluidos pero no limitados a GLUT1 (SLC2A1, Número de Acceso AC023331), GLUT2 (SLC2A2, AC068853), GLUT3 (SLC2A3, AC007536), GLUT4 (SLC2A4, AC003688), GLUT5 (SLC2A5, AC041046), GLUT6 (SLC2A6, AC002355), GLUT7 (SLC2A7, AL356306), GLUT8 (SLC2A8, AL445222), GLUT9 (SLC2A9, AC005674), GLUT10 (SLC2A10, AC031055), GLUT11 (SLC2A11, AP000350), GLUT11 (SLC2A11, AP000350), GLUT12 (SLC2A12, AL449363), o GLUT13 (SLC2A13, AJ315644). Después de la entrada en la célula, la glucosa es fosforilada para formar 6-fosfo-glucosa (6-P-G); esta fosforilación es realizada por hexocinasas, que se expresan de forma generalizada en tejidos de mamíferos, y glucocinasas, que se expresan en el hígado y en algunas células cerebrales. La 6-P-G es isomerizada después para formar 6-fosfo-fructosa mediante fosfoglucosa isomerasa (E.C. 5.3.1.9). Esta reacción requiere la apertura del anillo de glucosa en el carbono 5 seguido del cierre para formar un anillo de 4 carbonos, que se produce por oxidación del grupo hidroxilo del carbono 2 hasta grupo ceto. La 6-fosfo-fructosa es, a su vez, fosforilada a 1,6-difosfofructosa mediante 6-fosfofructosa-1-cinasa (E.C. 2.7.1.11), y este compuesto se escinde en gliceraldehído-3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato mediante fructosa bifosfato aldolasa (E.C. 4.1.2.13). La dihidroxiacetona fosfato formada en esta reacción se transforma en gliceraldehído-3-fosfato, que es el sustrato para gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (E.C.1.2.1.12), que forma 1,3-fosfoglicerato. El 1,3-fosfoglicerato se transforma en 3-fosfoglicerato mediante la 3-fosfoglicerato cinasa (E.C. 2.7.2.3), y el producto 3-fosfoglicerato de esta reacción se transforma en 2-fosfoglicerato mediante fosfogliceromutasa (E.C. 5.4.2.1). La enzima enolasa (E.C. 4.2.1.11) transforma 2-fosfoglicerato en fosfoenol piruvato, que después forma piruvato por la acción de piruvato cinasa (E.C. 2.7.1.40). El piruvato puede después transformarse en lactato o acetil-CoA, dependiendo de las condiciones metabólicas en la célula.

30 Algunos de los compuestos antiglicolíticos utilizados de acuerdo con la invención, y su uso como agentes anticonvulsivos y antiepilépticos, inhiben al menos una de las enzimas que median la glicólisis. En realizaciones preferidas, 2-DG inhibe la transformación de 6-fosfoglucosa en fructosa-6-fosfato debido a la falta de un grupo hidroxilo en la posición del carbono 2, dando como resultado una paralización de la ruta glicolítica. Así, la 2-DG actúa como un "imitador bajo en calorías" ya que impide la utilización de la glucosa de otro modo presente en la dieta y disponible para la ruptura metabólica.

Realizaciones alternativas también incluyen 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, combinaciones de otras desoxi-sustituciones de glucosa tal como 2,*n*-desoxi-D-glucosa (donde *n* = 3-5), compuestos diseñados por permutaciones de la fórmula *n,m* desoxi-D-glucosa (donde *n* = 2-5 y *m* = números enteros de 2-5 excluido el *n*), formulados para ser utilizados según la invención.

40 En ciertas realizaciones, la presente invención proporciona específicamente el uso de compuestos antiglicolíticos 2-desoxi-D-glucosa (2-DG) y formulaciones farmacéuticas de los mismos como un agente anticonvulsivo y antiepiléptico para el tratamiento de convulsiones, epilepsia y otras alteraciones paroxísticas en la disfunción neurológica y neuropsiquiátrica.

45 Como se describe en el presente documento, la 2-DG tenía efectos anticonvulsivos y antiepilépticos contra los ataques provocados *in vivo* en ratas mediante estimulación por activación progresiva del bulbo olfatorio, un modelo bien caracterizado y aceptado en la técnica de inducción de ataques y epilepsia. La 2-DG era también eficaz contra las descargas epilépticas provocadas *in vitro* mediante la elevación de la concentración extracelular de K⁺. La 2-DG actúa en el sistema nervioso central mediante la inhibición de la glicólisis, que también ha asociado efectos sobre otras rutas metabólicas que pueden influir de forma acumulativa en la generación de energía, rutas de señalización intracelular, y la regulación a largo plazo de la función celular, haciéndola un tratamiento útil de las alteraciones paroxísticas en la función neurológica y neuropsiquiátrica tal como ataques y epilepsia.

50 La administración de 2-DG (250 mg/kg IP) a ratas alimentadas con una dieta por lo demás normal 30 minutos antes de la estimulación por activación progresiva producía un efecto anticonvulsivo, y el tratamiento prolongado producía un efecto antiepiléptico. En las ratas inyectadas con 2-DG, la cantidad de corriente necesaria para provocar una posdescarga (PD) en la 20^a estimulación aumentó a 1,45 ± 0,35 veces la cantidad de corriente necesaria para producir la primera PD medida antes de la inyección. En comparación, la cantidad de corriente se redujo a 0,83 ± 0,15 de la corriente necesaria para la primera PD en animales de control (*p* = 0,016). Este aumento en el umbral demostró un efecto anticonvulsivo. La prevención de la disminución en el umbral de PD en respuesta a los ataques crónicos repetidos provocados normalmente observados en las ratas sin tratadas demostraron un efecto antiepiléptico. Estos resultados demostraron que la 2-DG podría ser utilizada como un fármaco anticonvulsivo y

antiepiléptico. Como la activación progresiva es un modelo reconocido en la técnica de la epilepsia progresiva e intratable (Cavazos y col., 1991, *Journal of Neuroscience* 11: 2795-2803), estos resultados también apoyan el uso de 2-DG y sus congéneres químicos relacionados como una nueva clase de fármacos anticonvulsivos y antiepilepticos que pueden trabajar donde fracasan los fármacos actuales.

- 5 La 2-DG se conoce en la técnica y ella misma y sus derivados se han utilizado en medicina, en particular como una molécula trazadora de radiomarcado en los escáneres de tomografía por emisión de positrones (TEP) de miocardio para el diagnóstico de enfermedad cardíaca isquémica y ataques cerebrales en seres humanos, así como ciertas enfermedades malignas (véase, www.fda.gov/cder/regulatorv/pet/fdgoncologyfinal.htm consultada el 23 de diciembre de 2003). La 2-DG se ha utilizado también como un agente quimioterapéutico contra el cáncer de mama (Kaplan y col., 1990. *Cancer Research* 50: 544-551).

10 Tal como se establece en el presente documento, se entenderá que las composiciones farmacéuticas que comprenden 2-DG y los procedimientos que utilizan dichas composiciones incluyen preparaciones de 2-desoxiglucosa como el estereoisómero D-, así como mezclas racémicas del mismo que comprenden cualquier combinación de 2-desoxiglucosa D- y L-, siempre que el porcentaje del estereoisómero D- sea mayor que cero. La 2-DG está disponible comercialmente, y preferiblemente se produce de acuerdo con las normas y directrices de la industria farmacéutica y de conformidad con todos los requisitos reglamentarios pertinentes. La 2-DG también se puede sintetizar utilizando procedimientos bien establecidos en la técnica (véase, por ejemplo, THE MERCK INDEX, 12^a Ed., Monograph 2951, Nueva Jersey: Merck & Co., 1997; Bergmann y col., 1922, *Ber.* 55: 158; Snowden y col., 1947, *JACS* 69: 1048; Bolliger y col., 1954, *Helv. Chim. Acta* 34: 989; Bolliger, 1962, "2-Deoxy-D-arabino-hexose (2-Deoxy-d-glucose)", en METHODS IN CARBOHYDRATE CHEMISTRY, vol. I, (Whistler y Wolfram, eds.), New York Academic Press, pág. 186, 189).

15 La invención también proporciona realizaciones de dichos compuestos antiglicolíticos como composiciones farmacéuticas para uso en el tratamiento o la prevención de la epilepsia o de las convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden fabricar de una manera que sea conocida en sí misma, p. ej., por medio de procesos de mezclado, disolución, granulado, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulado, atrapamiento o liofilización convencionales.

20 Las composiciones farmacéuticas de los compuestos antiglicolíticos definidos en el presente documento pueden formularse y administrarse a través de diversos medios, incluidos la administración sistémica, localizada o tópica. Las técnicas para la formulación y administración se pueden encontrar en "Remington's Pharmaceutical Sciences", Mack Publishing Co., Easton, PA. El modo de administración puede ser seleccionado para maximizar la entrega en un sitio diana deseado en el cuerpo. Las rutas adecuadas de administración pueden, por ejemplo, incluir la administración oral, rectal, transmucosal, transcutánea o intestinal; la administración parenteral, incluidas las inyecciones intramuscular, subcutánea e intramedular, así como las inyecciones intratecal, intraventricular directa, intravenosa, intraperitoneal, intranasal o intraocular.

25 Como alternativa, los compuestos antiglicolíticos se pueden administrar de una manera local en lugar de sistémica, por ejemplo, mediante inyección del compuesto directamente en un tejido específico, a menudo en una formulación de depósito o de liberación sostenida.

Específicamente, los compuestos y formulaciones antiglicolíticas se pueden administrar localmente por dispositivos y sistemas de infusión locales para lograr efectos locales en los tejidos.

30 Las composiciones farmacéuticas para uso de acuerdo con la presente invención se pueden formular así de manera convencional utilizando uno o más vehículos fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de compuestos antiglicolíticos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la ruta de administración elegida.

35 Los compuestos antiglicolíticos se pueden formular para administración parenteral por inyección, p. ej., mediante inyección de bolo o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, p. ej., en ampollas o en recipientes de dosis múltiples, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

40 Las formulaciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas de los compuestos activos en forma soluble en agua. Además, las suspensiones de los compuestos antiglicolíticos se pueden preparar como suspensiones para inyecciones oleosas apropiadas. Los disolventes o vehículos lipófilos adecuados incluyen aceites grasos tales como aceite de sésamo, o ésteres de ácidos grasos sintéticos, tales como oleato de etilo o triglicéridos o liposomas. Las suspensiones de inyecciones acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión, tal como carboximetilcelulosa de sodio, sorbitol o dextrano. Opcionalmente, la suspensión puede contener también estabilizantes o agentes adecuados que aumentan la solubilidad de los compuestos para permitir la preparación de soluciones muy concentradas. Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, p. ej., agua estéril libre de pirógenos,

antes de su uso. Los compuestos pueden formularse también en composiciones rectales tales como supositorios o enemas contra la retención, p. ej., que contengan bases para supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

5 Para inyección, los compuestos antiglicolíticos se pueden formular en soluciones acuosas apropiadas, tales como tampones fisiológicamente compatibles como la solución de Hank, la solución de Ringer, la solución de Ringer lactato, o el tampón de solución salina fisiológica. Para administración transmucosal y transcutánea, en la formulación se utilizan penetrantes apropiados para la barrera a impregnar. Tales penetrantes son generalmente conocidos en la técnica.

10 Para la administración oral, los compuestos antiglicolíticos pueden formularse fácilmente combinando los compuestos activos con vehículos farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales vehículos permiten que los compuestos de la invención se formen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral pueden obtenerse con excipiente sólido, opcionalmente triturando una mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, añadiendo después auxiliares adecuados, si se desea, para obtener
15 comprimidos o núcleos de grageas. Los excipientes adecuados son, en particular, cargas tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones de celulosa y almidón tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, celulosa microcristalina, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP). Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes, como la polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una
20 sal del mismo tal como alginato de sodio.

Los núcleos de grageas se proporcionan con recubrimientos adecuados. Para este propósito, pueden usarse las soluciones de azúcar concentradas, que puede contener opcionalmente goma arábiga, talco, polivinilpirrolidona, gel carbopol, polietilenglicol y/o dióxido de titanio, soluciones de laca y disolventes o mezclas de disolventes orgánicos adecuados. A los recubrimientos de comprimidos o grageas pueden añadirse colorantes o pigmentos para la
25 identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis del compuesto activo.

Las preparaciones farmacéuticas que pueden usarse por vía oral incluyen cápsulas duras fabricadas de gelatina, así como cápsulas blandas, selladas, fabricadas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas duras pueden contener los ingredientes activos mezclados con carga tal como lactosa, aglutinantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y, opcionalmente, estabilizantes. En las
30 cápsulas blandas, los compuestos antiglicolíticos pueden estar disueltos o suspendidos en líquidos adecuados, tales como aceites grasos, parafina líquida, o polietilenglicoles líquidos. Además, se pueden añadir estabilizantes. Todas las formulaciones para administración oral deben estar en dosis adecuadas para dicha administración. Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o pastillas formuladas de manera convencional.

35 Para la administración mediante compuestos antiglicolíticos de inhalación para uso según la presente invención se suministran convenientemente en forma de una presentación de pulverización de aerosol desde envases presurizados o desde un nebulizador, con el uso de un propulsor adecuado, p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para entregar una cantidad
40 medida. Las cápsulas y cartuchos de, p. ej., gelatina para uso en un inhalador o insuflador se pueden formular conteniendo una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Además de las formulaciones previamente descritas, los compuestos antiglicolíticos también se pueden formular como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar por
45 implantación (por ejemplo, de forma subcutánea o intramuscular) o por inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos antiglicolíticos se pueden formular con materiales adecuados poliméricos o hidrófobos (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Un vehículo farmacéutico para las realizaciones hidrófobas de los compuestos antiglicolíticos de la invención es un sistema co-disolvente que comprende alcohol bencílico, un tensioactivo no polar, un polímero orgánico miscible en
50 agua, y una fase acuosa. El sistema co-disolvente puede ser el sistema co-disolvente VPD. VPD es una solución de 3 % peso/vol. de alcohol bencílico, 8 % peso/vol. de tensioactivo no polar polisorbato 80, y 65 % peso/vol. de polietilenglicol 300, enrasado con etanol absoluto. El sistema co-disolvente VPD (VPD:5W) consiste en VPD diluido 1:1 con una dextrosa al 5 % en solución acuosa. Este sistema co-disolvente disuelve bien los compuestos hidrófobos, y él mismo produce baja toxicidad tras la administración sistémica. Naturalmente, las proporciones de un sistema co-disolvente pueden variar considerablemente sin destruir sus características de solubilidad y toxicidad.
55 Además, la identidad de los componentes co-disolventes se pueden variar: por ejemplo, en lugar de polisorbato 80 pueden usarse otros tensioactivos no polares de baja toxicidad; el tamaño de la fracción de polietilenglicol puede variarse; otros polímeros biocompatibles pueden reemplazar al polietilenglicol, p. ej., polivinilpirrolidona; y otros azúcares o polisacáridos pueden sustituir a la dextrosa.

5 Como alternativa, se pueden emplear otros sistemas de entrega. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de suministro o portadores para fármacos hidrófobos. También pueden emplearse ciertos disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, aunque normalmente a costa de una mayor toxicidad. Además, los compuestos antiglicolíticos pueden ser entregados utilizando un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el agente terapéutico. Diversos materiales de liberación sostenida se han establecido y son bien conocidos por los expertos en la técnica. Las cápsulas de liberación sostenida pueden, dependiendo de su naturaleza química, liberar los compuestos antiglicolíticos desde unas pocas semanas hasta más de 100 días.

10 Las composiciones farmacéuticas también pueden comprender vehículos o excipientes adecuados en fase sólida o gel. Ejemplos de tales vehículos o excipientes incluyen, pero no se limitan a carbonato de calcio, fosfato de calcio, varios azúcares, almidones, derivados de celulosa, gelatina y polímeros tales como polietilenglicoles.

15 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para su uso en la presente invención incluyen composiciones en las que los ingredientes activos están contenidos en una cantidad eficaz para conseguir su finalidad prevista. Más específicamente, una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad eficaz para impedir el desarrollo de o para aliviar los síntomas existentes del sujeto a tratar. La determinación de las cantidades eficaces está dentro de la capacidad de los expertos en la técnica, especialmente a la luz de la descripción detallada proporcionada en el presente documento.

20 La invención también proporciona formulaciones de los compuestos antiglicolíticos como productos alimenticios, complementos alimenticios o como un componente de un alimento para un animal, preferiblemente un ser humano, más preferiblemente un ser humano con epilepsia y lo más preferiblemente seres humanos adultos o en jóvenes con epilepsia médicamente refractaria o resistente a los medicamentos.

25 Para cualquiera de los compuestos antiglicolíticos utilizados en la invención, la dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos *in vitro*, como se ha descrito en el presente documento, o utilizando sistemas de modelos animales reconocidos en la técnica o una combinación de los mismos. Por ejemplo, una dosis puede formularse en modelos animales para conseguir un intervalo de concentración circulante que incluye la EC_{50} (dosis eficaz para un aumento del 50 %) como se determina *in vitro*, es decir, la concentración del compuesto de ensayo que alcanza la mitad de la cantidad máxima de frecuencia de los ataques. Dicha información se puede utilizar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos.

30 Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de diversos factores que incluyen la actividad de los compuestos antiglicolíticos empleados, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, y la tasa de excreción, combinación de fármacos, la gravedad y la extensión del trastorno convulsivo particular, en la terapia que experimenta el paciente y el criterio del médico que prescribe y, en particular, la edad del paciente, que puede ser un adulto, un joven, un niño o un bebé.

35 Los compuestos antiglicolíticos preferidos proporcionados por la invención tendrán ciertas propiedades farmacológicas. Tales propiedades incluyen, pero no se limitan a la biodisponibilidad oral, baja toxicidad, baja unión a proteínas séricas y deseables semivida *in vitro* e *in vivo*. Los ensayos pueden ser usados para predecir estas propiedades farmacológicas deseables. Los ensayos usados para predecir la biodisponibilidad incluyen el transporte a través de monocapas de células intestinales humanas, que incluyen monocapas de células Caco-2. La unión a proteínas séricas puede predecirse a partir de ensayos de unión de albúmina. Tales ensayos se describen en una revisión de Oravcová y col., (1996, *J. Chromat B* 677: 1-27). Las semividas *in vitro* de compuestos antiglicolíticos pueden predecirse a partir de ensayos de semivida microsómica como se describe por Kuhnz y Gieschen (1998, *Drug Metabolism and Disposition*, 26: 1120-1127).

45 La toxicidad y la eficacia terapéutica de dichos compuestos antiglicolíticos se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o en animales de experimentación, p. ej., para determinar la LD_{50} (la dosis letal para el 50 % de la población) y la ED_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50 % de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico, y puede expresarse como la relación entre LD_{50} y ED_{50} . Se prefieren los compuestos antiglicolíticos que muestran altos índices terapéuticos. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares y estudios en animales pueden usarse para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de dichos compuestos antiglicolíticos se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la ED_{50} con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. La formulación exacta, la vía de administración y la dosificación pueden ser escogidas por el médico personal a la vista del estado del paciente (véase, p. ej., Fingl y col., 1975, en "The Pharmacological Basis of Therapeutics", Cap. 1, pág. 1).

55 Por ejemplo, la cantidad de la dosificación y el intervalo de administración de la 2-DG se pueden ajustar individualmente para reducir la frecuencia de los ataques, duración o la intensidad de la dosis desde 250 mg/kg o menos hasta la más alta tolerada para reducir la frecuencia de los ataques y minimizar la toxicidad. Dosis de 650 mg/kg fueron bien toleradas en ratas. Los efectos anticonvulsivos de 2-DG administrada a 250 mg/kg dos veces al

día durante 3 meses duraron aproximadamente 8 semanas después de suspender la 2-DG mientras se continúa la estimulación dos veces al día, lo que indica que los efectos de la 2-DG se prolongan bastante. Un médico experto en la técnica puede ajustar la dosis en el intervalo hasta 500 a 600 mg/kg y el calendario de administración que produce efectos anticonvulsivos y antiepilépticos prolongados. Las cantidades de dosificación eficaces se pueden ajustar a aproximadamente 14 mg/kg de 2-DG en niños y 40 mg/kg de 2-DG en adultos, utilizando las medidas de eficacia terapéutica (p. ej., disminución en la frecuencia o gravedad de los ataques) como un criterio para establecer niveles de dosificación eficaces.

Para las realizaciones alternativas, los compuestos antiglicolíticos de este tipo inhiben reversiblemente la glicólisis, la cantidad de dosificación y el calendario de administración de dichos compuestos se pueden ajustar individualmente para proporcionar niveles de plasma de los compuestos antiglicolíticos que sean suficientes para reducir la frecuencia, la duración o la intensidad de los ataques.

Las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento se pueden administrar antes, durante o después de la ocurrencia de un evento paroxístico tal como un ataque, especialmente un ataque epiléptico, y la vía de administración y dosis administrada elegida en consecuencia. Por ejemplo, la administración de las composiciones farmacéuticas de la invención durante un ataque será preferiblemente una dosificación rápidamente biodisponible que utilice una vía de administración segura y eficaz (entre otras, que pueden no incluir formulaciones orales en estas realizaciones).

Los usos de la invención reducen la frecuencia, la duración o la intensidad de los ataques en un animal, preferiblemente un ser humano adulto o en uno joven. La invención es eficaz para reducir la frecuencia, duración o intensidad de los ataques en al menos el 50 %, más preferiblemente el 60 %, más preferiblemente el 70 %, más preferiblemente el 80 %, más preferiblemente el 90 %, más preferiblemente el 95 %, más preferiblemente el 98 %, y más preferiblemente el 99 % de los pacientes tratados. En realizaciones preferidas, la invención se pone en práctica utilizando las composiciones farmacéuticas de la invención como se describe en el presente documento.

Los Ejemplos que siguen son ilustrativos de realizaciones específicas de la invención, y de varios usos de las mismas. Se exponen únicamente con fines explicativos, y no deben ser tomados como limitantes de la invención.

Ejemplo 1

Acciones anticonvulsivas y antiepilépticas de 2-DG contra ataques de activación progresiva

Los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de 2-desoxiglucosa (2-DG) se evaluaron en el modelo de activación progresiva de la epilepsia del lóbulo temporal.

En el modelo de la activación progresiva, la activación repetida de rutas neuronales *in vivo* induce ataques electrográficos y conductuales progresivos, aumentos permanentes de la susceptibilidad a ataques adicionales, y finalmente ataques espontáneos (Goddard y col., 1969, *Experimental Neurology*. 25: 295-330; Pinel, 1978, *Experimental Neurology* 58: 190-202; Wada y col., 1975, *Canadian Journal of Neurological Sciences* 2: 477-492; Sayin y col., 2003, *Journal of Neuroscience*. 23: 2759-2768). La activación progresiva se ha convertido en el modelo experimental de la epilepsia más ampliamente estudiado (McNamara, 1999, *Nature* 399: A15-22). En un protocolo típico de activación progresiva, la estimulación periódica suministrada una vez o dos veces al día provoca poco a poco una creciente posdescarga (PD) eléctrica sincronizada o ataque electrográfico acompañado de un ataque conductual. Una vez que los ataques de activación progresiva se han inducido repetidamente, la susceptibilidad a ataques repetidos es para toda la vida y por ello puede considerarse permanente. La activación progresiva puede ser inducida por la activación eléctrica o química de diversas rutas neuronales en una variedad de especies que incluyen anfibios, mamíferos y primates (Morrell y Tsuru, 1976, *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology* 40: 1-11); Wada y Mizoguchi, 1984; *Epilepsia* 25: 278-287). Debido a que la activación progresiva induce alteraciones permanentes en el cerebro y puede ser provocada en una variedad de especies por diversos estímulos, se ha considerado como un fenómeno de plasticidad cerebral a largo plazo, así como un modelo de epilepsia del lóbulo temporal. Las características conductuales de ataques repetidos de activación progresiva breve provocados por la estimulación límbica se asemejan a los ataques parciales complejos humanos con generalización secundaria. En las primeras etapas de activación progresiva límbica en roedores, cada estimulación provoca una PD acompañada de un ataque parcial breve, que progresa hasta ataques generalizados secundarios provocados por estímulos. Esta característica es un ejemplo de las alteraciones funcionales progresivas inducidas por activación progresiva que son epileptógenas.

Experimentos *in vivo* para demostrar los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de 2-DG se realizaron de la forma siguiente. Ratas macho adultas Sprague-Dawley (con un peso entre 250-350 g, obtenidas de Harlan, Madison, WI) fueron anestesiadas con ketamina (80 mg/kg por vía intramuscular) y xilacina (10 mg/kg por vía intramuscular), y fueron implantadas estereotácticamente con un electrodo bipolar de acero inoxidable aislado para la estimulación y registro. El electrodo fue implantado en el bulbo olfatorio (9,0 mm anterior, 1,2 mm lateral, 1,8 mm ventral con respecto al bregma) o la ruta perforante (8,1 mm posterior, 4,4 mm lateral, 3,5 mm ventral con respecto al bregma), y se fijó al cráneo con acrílico. Después de un período de recuperación de dos semanas después de la colocación del electrodo, las ratas implantadas, sin restricciones, despiertas, recibieron estimulación de activación progresiva dos

veces al día (5 días por semana) con un tren de un segundo de pulsos de onda cuadrada de 1,0 milisegundos (ms) de corriente constante bifásica de 62 hercios (Hz) para inducir ataques de activación progresiva. El electroencefalograma se registró desde el electrodo bipolar, que estaba conectado al estimulador para el suministro de la estimulación de activación progresiva. En el primer día de la estimulación, cada rata recibió un tren de estímulo de 500 microamperios (μA). Si se provocaba una PD, esta intensidad se utilizaba en estimulaciones posteriores. Si no se provocaba una PD, la intensidad de la estimulación se incrementaba en una secuencia de 500, 700, 900, 1.000, 1.100, 1.200, 1.300 y 1.400 μA hasta que se provocaba una PD. La intensidad que en un principio provocaba PD se utilizó para estimulaciones posteriores. Si 1.400 μA no provocaban PD, la estimulación continuaba en días posteriores aumentada mediante esta misma secuencia de intensidades hasta un máximo de 1.500 μA . Si se provocaba PD en 3 estimulaciones consecutivas a una intensidad dada, la intensidad de la estimulación se disminuía después en decrementos de 100 μA . A intensidades de estimulación por debajo de 500 μA , la intensidad disminuía en decrementos de 30 μA . Estos procedimientos de estimulación proporcionan estimulación a la intensidad más baja necesaria para provocar una PD (Sutula y Steward, 1986, *Journal of Neurophysiology* 56: 732-746; Cavazos y col., 1991, *Journal of Neuroscience* 11: 2795-2803). Los ataques conductuales provocados fueron clasificados según criterios estándares y variaban desde ataques de Clase I (detención conductual) hasta de Clase V (actividad motora tonico-clónica bilateral con pérdida de tono postural), que son comparables a los ataques complejos parciales con generalización secundaria.

Las ratas implantadas con electrodos en el bulbo olfatorio recibieron estimulación según el protocolo descrito anteriormente. Se determinó el umbral inicial de PD y sirvió como línea de base para la comparación de los efectos de los ataques repetidos provocados de activación progresiva sobre el umbral de PD y el efecto del tratamiento con 2-DG. Después de alcanzar la 3ª PD provocada, un subgrupo de las ratas recibieron 2-DG (250 mg/kg) por vía intraperitoneal 30 minutos antes de cada estimulación de activación progresiva dos veces al día, y se compararon con las ratas de control implantadas con electrodos no tratadas que también recibieron estimulación de activación progresiva. El umbral medio de PD de la línea de base de las ratas asignadas al grupo de tratamiento con 2-DG era de $975 \pm 125 \mu\text{A}$. Después de la 20ª estimulación, el umbral medio de PD alcanzado era de $1.400 \pm 57 \mu\text{A}$. Como el protocolo no se extendía más allá de 1.500 μA , el efecto sobre el umbral de PD podría ser aún mayor. El umbral inicial de PD en las ratas no tratadas era de $400 \pm 89 \mu\text{A}$, y de acuerdo con numerosos estudios anteriores, el umbral medio de PD disminuía a $330 \pm 35 \mu\text{A}$ después de la 20ª estimulación. El aumento en el umbral de PD en las ratas tratadas con 2-DG, que contrasta con la disminución esperada en el umbral de PD en ratas de control no tratadas, demostró un pronunciado efecto anticonvulsivo de la 2-DG.

Para examinar el curso temporal de los efectos de la 2-DG sobre el umbral de PD y permitir comparaciones entre grupos, las intensidades de estimulación para cada rata se dividieron entre la intensidad necesaria para las PD de la línea de base y se representaron gráficamente como una función de la cantidad de estimulación que provoca la PD. Estas intensidades de estímulo normalizadas se representaron gráficamente y se compararon entre el grupo tratado con 2-DG y el de control.

Estos resultados se muestran en las Figuras 2A a 2C. La administración de 2-DG produjo efectos anticonvulsivos gradualmente crecientes, y con el tratamiento continuado se produjeron también efectos antiepilépticos. En el grupo de ratas inyectadas con 2-DG, el umbral de la corriente de PD necesario para provocar una PD aumentó gradualmente, y en la 20ª estimulación aumentó hasta $1,45 \pm 0,35 \mu\text{A}$ del umbral de PD de la línea de base. En comparación, el umbral de la corriente de PD en ratas normales disminuyó gradualmente, y después de 20 estimulaciones se redujo a $0,83 \pm 0,15 \mu\text{A}$ de la línea de base (diferencias en comparación con el significativo grupo tratado, $p = 0,016$, prueba t). Este aumento en el umbral en el grupo tratado con 2-DG en comparación con el grupo no tratado demostró un efecto anticonvulsivo. Como la activación progresiva normalmente induce una disminución progresiva del umbral de PD (véase la Figura 2A), el aumento gradualmente cambiante del umbral de PD por la 2-DG más que de la disminución progresiva en el umbral de PD en respuesta a los ataques provocados crónicos repetidos demuestra un efecto antiepiléptico. Los resultados de estos estudios demostraban que la 2-DG era eficaz en un modelo de animal de experimentación establecido como fármaco tanto anticonvulsivo como antiepiléptico.

Los efectos anticonvulsivos y antiepilépticos de 2-DG se confirmaron en ratas que experimentaban ataques de activación progresiva provocados por estimulación por vía perforante según el protocolo indicado anteriormente. La 2-DG aumentó el umbral de PD en ratas que recibieron estimulación por vía perforante ($n = 15$) en comparación con las ratas de control que recibieron solución salina ($n = 12$) ($p < 0,001$, ANOVA, Figura 2B). Las ratas tratadas con 2-DG ($n = 11$) que recibieron estimulación por vía perforante necesitaron $27,7 \pm 6,0$ PD para alcanzar el hito del primer ataque tonico clónico generalizado de Clase V en comparación con $12,9 \pm 1,3$ PD en las de control tratadas con solución salina ($n = 10$, $p < 0,03$, prueba t). Las ratas tratadas con 2-DG necesitan más PD para alcanzar ataques de la Clase 3, Clase 4 y Clase 5 que las de control tratadas con solución salina (véase la Tabla 1, $p < 0,03$, ANOVA y Figura 2C). Estos resultados demostraron que 2-DG tiene efectos anticonvulsivos y antiepilépticos contra ataques provocados y progresión de la activación progresiva que no dependen de la ubicación de la estimulación o del sitio de origen de los ataques.

Tabla 1

	PD para Clase 3	PD para Clase 4	PD para Clase 5
2-DG	16,7 ± 3,1	20,9 ± 4,0	27,7 ± 6,0
Solución salina	6,6 ± 1,3	9,3 ± 0,9	12,9 ± 1,3

El efecto de la 2-DG en el umbral de PD también se ilustra en la Figura 3 para una rata de activación progresiva que experimenta ataques provocados repetidos. Los ataques provocados repetidos eran acompañados de una disminución gradual del umbral de PD, que era inicialmente 1.500 μ A a 200 μ A. La administración intraperitoneal (IP) de 2-DG a una dosis de 250 mg/kg inducía gradualmente un incremento en el umbral de PD hacia 1.500 μ A durante un período de aproximadamente 2-3 semanas de estimulación dos veces al día, lo que sugería que el efecto anticonvulsivo de 2-DG puede continuar desarrollándose gradualmente durante la administración repetida. El efecto anticonvulsivo gradualmente creciente sobre el umbral de PD era también bastante prolongado, ya que el umbral de PD se mantenía elevado durante hasta 6 semanas después de suspender el tratamiento de 2-DG dos veces al día.

Ejemplo 2

Efecto de 2-DG en estallido sincronizado en laminillas de hipocampo

Para confirmar aún más los efectos anticonvulsivos de 2-DG observados en ratas con activación progresiva, se evaluó el efecto de la 2-DG en el estallido sincronizado inducido por elevación de la $[K^+]_o$, en laminillas de hipocampo de rata *ex corpora*.

En estos experimentos, el día 14 posnatal, 35 ratas macho Sprague-Dawley fueron anestesiadas y decapitadas. Se extrajeron los cerebros y se transfirieron a líquido cefalorraquídeo frío artificial (ACSF), que comprendía NaCl 124 mM, KCl 5 mM, NaH_2PO_4 1,25 mM, $MgSO_4$ 1,5 mM y $NaHCO_3$ 26 mM, complementado con glucosa 10 mM), que se burbujeó de forma continua con 95 % de O_2 y 5 % de CO_2 . Las laminillas de hipocampo transversales (~400 micrómetros) se prepararon en un micrótopo de cuchilla vibratoria Leica VT1000 S (Wetzlar Alemania). Se dejó que las laminillas se recuperaran durante 1 hora a temperatura ambiente y después se transfirieron a una cámara de registro de la interfaz a 34 °C en ACSF con $[K^+]_o$ de 7,5 mM. Se hicieron registros extracelulares de la región CA3 con un Axioclamp 2B (Axon Instruments, Forest City, CA) utilizando un microelectrodo de vidrio relleno de NaCl 150 mM. Los datos se registraron y analizaron utilizando PClamp8 (Axon Instruments).

El estallido sincronizado se indujo por incubación de laminillas de hipocampo en ACSF complementado con una concentración final de $[K^+]_o$ de 7,5 mM. Los registros de la línea de base se obtuvieron después de exposición a $[K^+]_o$ elevada durante 1 hora y la frecuencia de ráfaga se había estabilizado. A continuación, el estallido se registró en ACSF que contenía 2-DG 1 mM. Los resultados de estos experimentos se muestran en las Figuras 4A a 4C. La frecuencia de ráfaga disminuyó progresivamente después de la adición de 2-DG como se muestra en los registros de la Figura 4B y 4C y en los gráficos de barras en las Figuras 5A y 5B.

Como se muestra en la Figura 5B, los efectos anticonvulsivos de 2-DG persistieron hasta 60 minutos después del retorno de la laminilla de hipocampo al ACSF que contenía $[K^+]_o$ de 7,5 mM, pero sin 2-DG. Este hallazgo era congruente con estudios previos que demuestran que la 2-DG queda atrapada en las células después de la absorción por el transportador de glucosa, y la 2-DG, probablemente, no es arrastrada fuera del tejido.

Para determinar además si los efectos anticonvulsivos de 2-DG se debieron al suministro disminuido de energía a las neuronas y células cerebrales como resultado de la inhibición de la glicólisis, se evaluaron los efectos de la 2-DG en el estallido cuando se suministraba lactato como una fuente de energía alternativa. Como se demostraba en la Figura 5C, la adición de 2-DG 1 mM disminuía el estallido en presencia de lactato 20 mM, lo que indica que los efectos anticonvulsivos de 2-DG no se pueden atribuir a la disminución del suministro de energía por la inhibición de la glicólisis mediante 2-DG.

Ejemplo 3

Disminución de estallido sincronizado mediante yodoacetato

Para confirmar que los resultados expuestos anteriormente se debieron a efectos antiglicolíticos, los experimentos expuestos en el Ejemplo 2 se repitieron utilizando ACSF complementado con glucosa 10 mM o lactato 10 mM en presencia de yodoacetato 200 μ M, un inhibidor de la enzima glicolítica, la gliceraldehido fosfato deshidrogenasa (E.C. 1.2.1.12). Los resultados de estos experimentos se muestran en las Figuras 6 y 7. La Figura 6 muestra la tasa del estallido sincronizado de la línea de base de una laminilla de hipocampo en ACSF con $[K^+]_o$ 10 mM, glucosa 10 mM y lactato 20 mM. La disminución en la frecuencia de ráfaga se muestra en forma gráfica en la Figura 7. El yodoacetato disminuyó el estallido sincronizado, lo que demuestra que la inhibición de la glicólisis por la inhibición de la gliceraldehido fosfato deshidrogenasa es también un medio eficaz para la disminución de la sincronización

neuronal, el evento celular asociado con diversos trastornos convulsivos.

Ejemplo 4

Efecto de la fuente de energía sobre el estallido sincronizado inducido en laminillas de hipocampo

5 Para investigar más a fondo las acciones anticonvulsivas de 2-DG, se evaluaron también los efectos de la falta de glucosa sobre las descargas de ráfagas epilépticas.

10 Los efectos de la falta de glucosa sobre las descargas de ráfagas sincronizadas se examinaron en laminillas de hipocampo de rata *ex corpora* utilizando los procedimientos descritos en el Ejemplo 2. Las ráfagas sincronizadas espontáneas se registraron en CA3 en ACSF que contenía glucosa 10 mM complementada con $[K^+]_o$ 7,5 mM durante ~1 h, y después en ACSF exento de glucosa complementado con lactato 10 mM o piruvato 10 mM. Los resultados de estos experimentos se muestran en la Figura 8. Se encontró que la frecuencia media de las ráfagas en la línea de base en glucosa 10 mM era regular con un intervalo entre ráfagas de ~3,8 segundos. El intervalo entre ráfagas aumentó a 24 segundos cuando la laminilla se expuso a ACSF exento de glucosa complementado con lactato 10 mM, lo que indica un efecto anticonvulsivo de falta de glucosa. Este efecto era rápidamente inducido y era reversible, con el efecto de la desaceleración observada dentro de 5-10 minutos, y la recuperación de los valores de la línea de base dentro de los 10 minutos después de la retorno a ACSF que contenía glucosa 10 mM. Resultados similares se encontraron cuando la glucosa se sustituyó por piruvato 10 mM. Estos resultados demostraron que la eliminación de la glucosa y la sustitución por fuentes de energía alternativas tales como lactato o piruvato suprimen las ráfagas sincronizadas en CA3 y tienen efectos anticonvulsivos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una cantidad eficaz de un compuesto antiglicolítico elegido de 2-desoxiglucosa, 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa, donde $n = 3-5$, *n,m* desoxi-D-glucosa, donde $n = 2-5$ y $m =$ números enteros de 2-5 excluido el n , para su uso en el tratamiento o prevención de la epilepsia o convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven.
2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 para tratar o prevenir la epilepsia.
3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 para tratar o prevenir convulsiones.
4. El compuesto para su uso según la reivindicación 3, en donde la convulsión está asociada con un ataque epiléptico.
- 10 5. El compuesto para su uso según la reivindicación 2, en donde el compuesto antiglicolítico se administra antes de el ser humano tenga un ataque epiléptico, durante un ataque epiléptico o después de que el ser humano tenga un ataque epiléptico.
6. El compuesto para su uso según la reivindicación 5, en donde el compuesto antiglicolítico se administra dentro de 30 minutos antes o 24 horas después de que el ser humano tenga un ataque epiléptico.
- 15 7. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, en el que el compuesto es 2-desoxi-glucosa.
8. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 para elevar el umbral de los ataques en el tejido cerebral o neuronal de un ser humano.
9. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, para disminuir el estallido epiléptico en células cerebrales.
- 20 10. Una composición farmacéutica para administración oral o tópica para su uso en el tratamiento o prevención de la epilepsia o convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto antiglicolítico elegido de 2-desoxiglucosa, 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa, en donde $n = 3-5$, *n,m* desoxi-D-glucosa, donde $n = 2-5$ y $m =$ números enteros de 2-5 excluido el n , junto con un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25 11. Uso de un compuesto antiglicolítico elegido de 2-desoxiglucosa, 3-desoxi-D-glucosa, 4-desoxi-D-glucosa, 5-desoxi-D-glucosa, 2,*n*-desoxi-D-glucosa, donde $n = 3-5$, *n,m* desoxi-D-glucosa, donde $n = 2-5$ y $m =$ números enteros de 2-5 excluido el n , en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento o prevención de la epilepsia o convulsiones en un ser humano adulto o en uno joven.

FIGURA 1

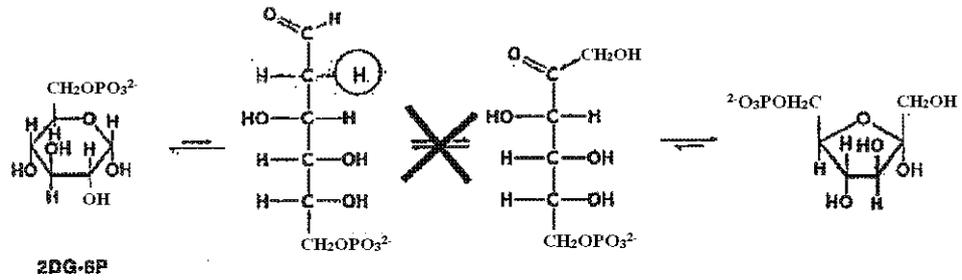


FIGURA 2A

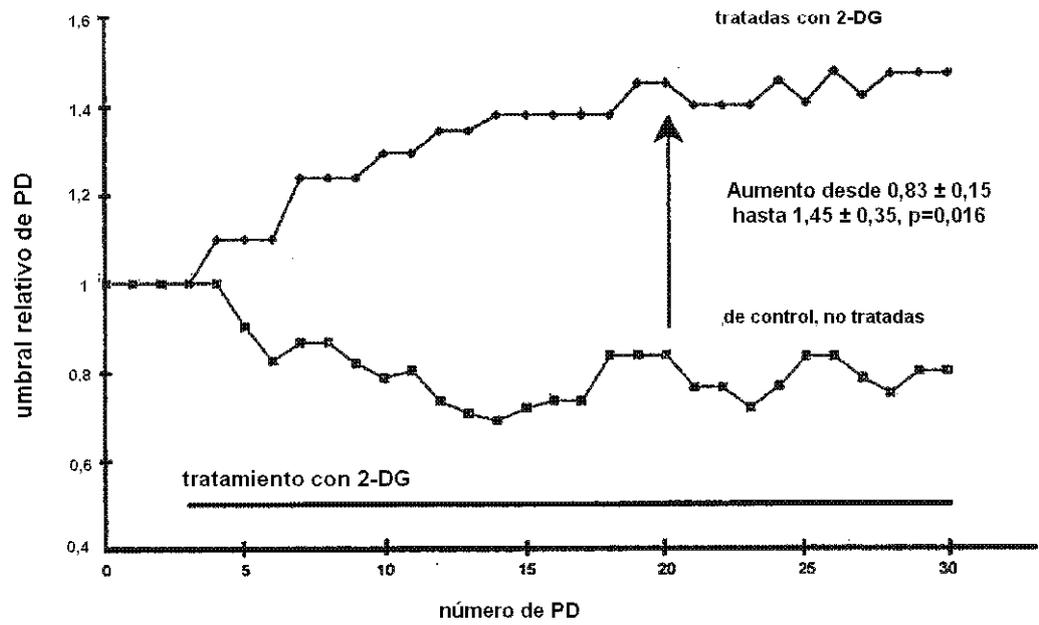


FIGURA 2B

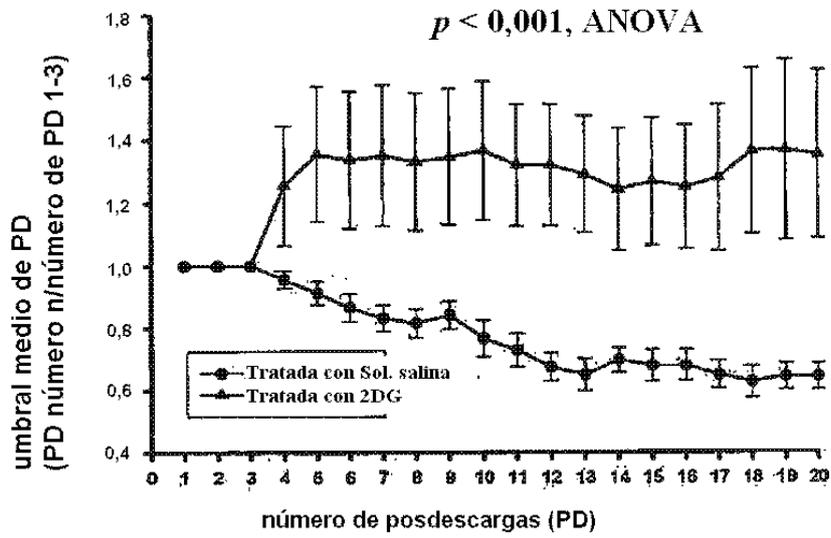


FIGURA 2C

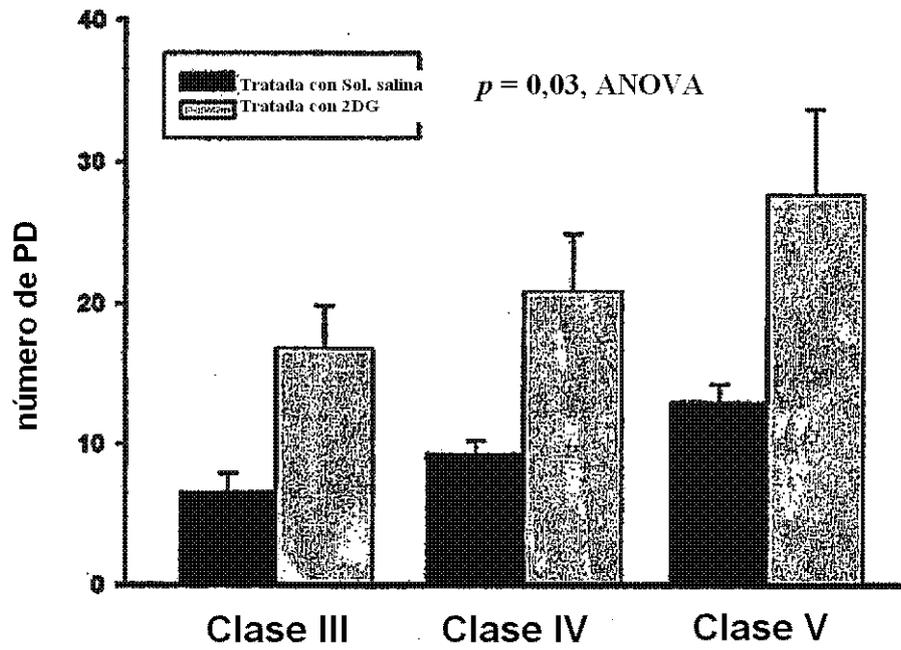


FIGURA 3

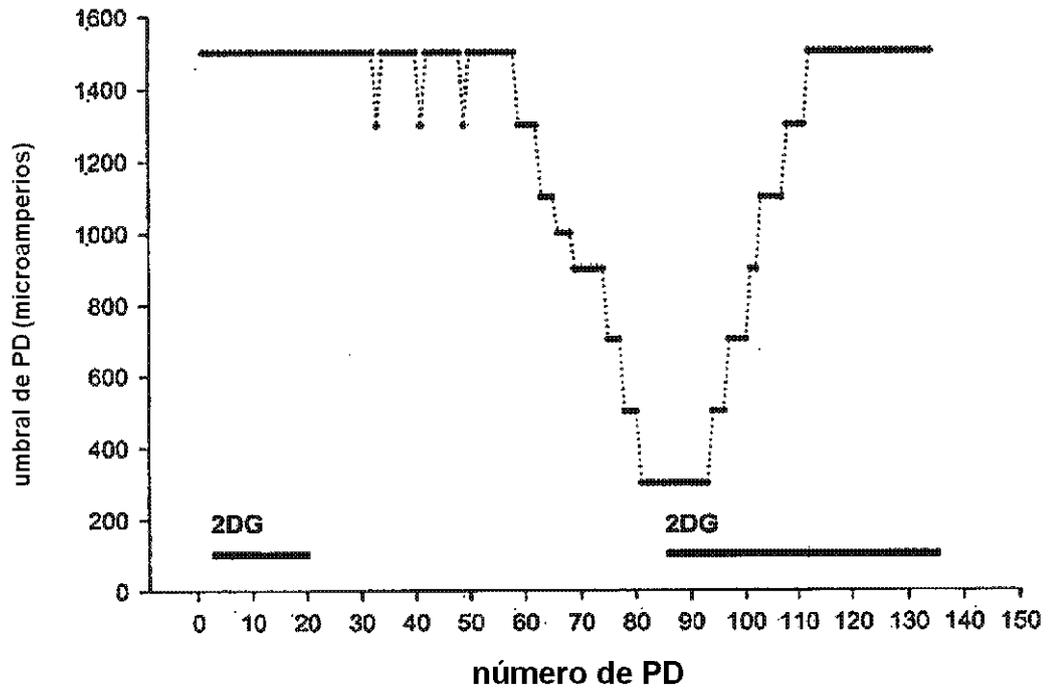


FIGURA 4

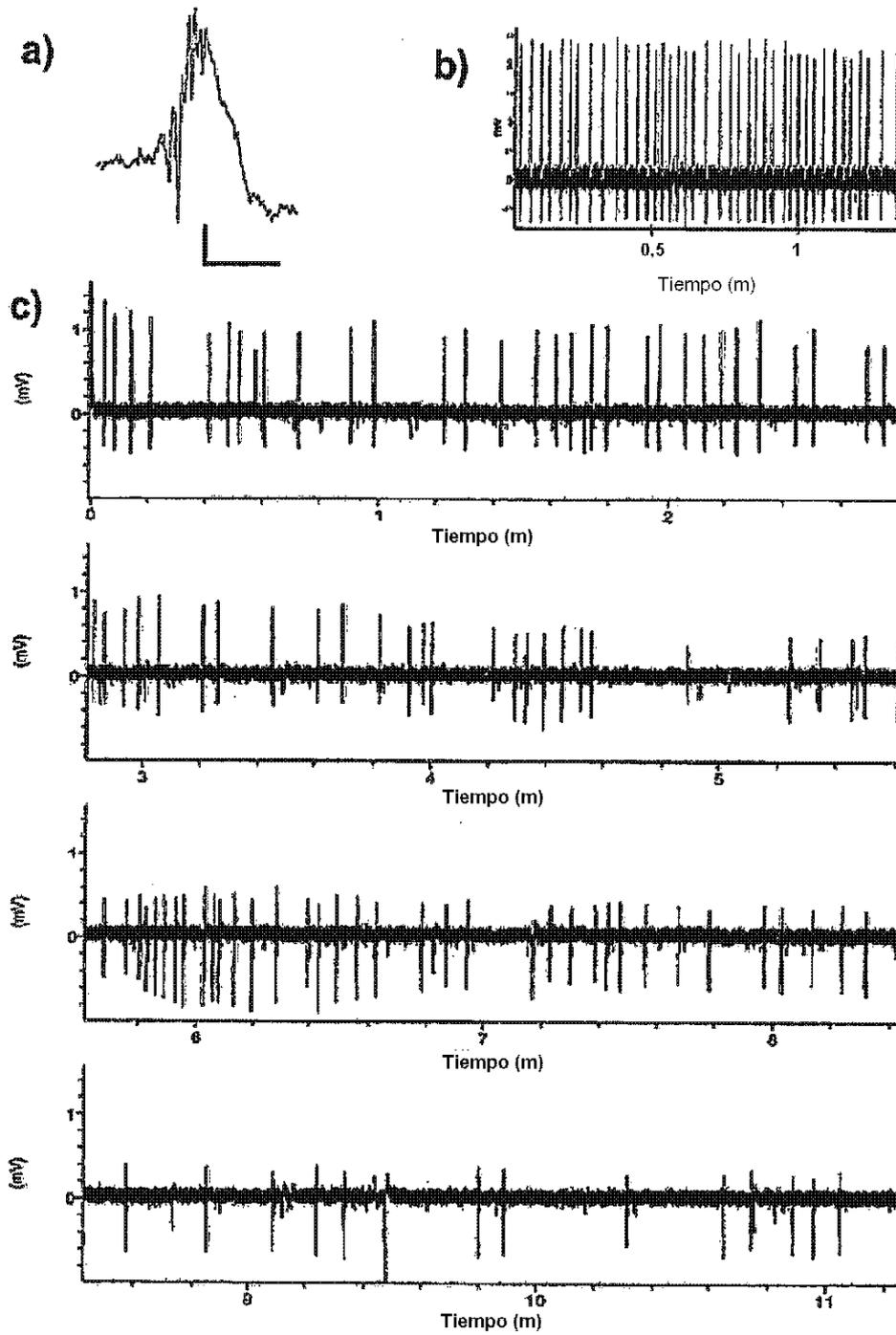


FIGURA 5A

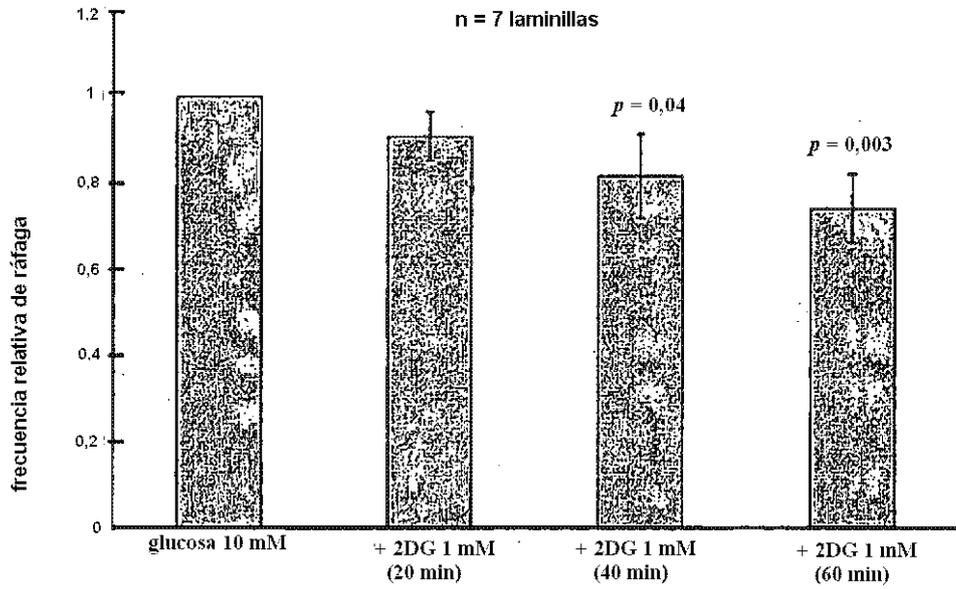


FIGURA 5B

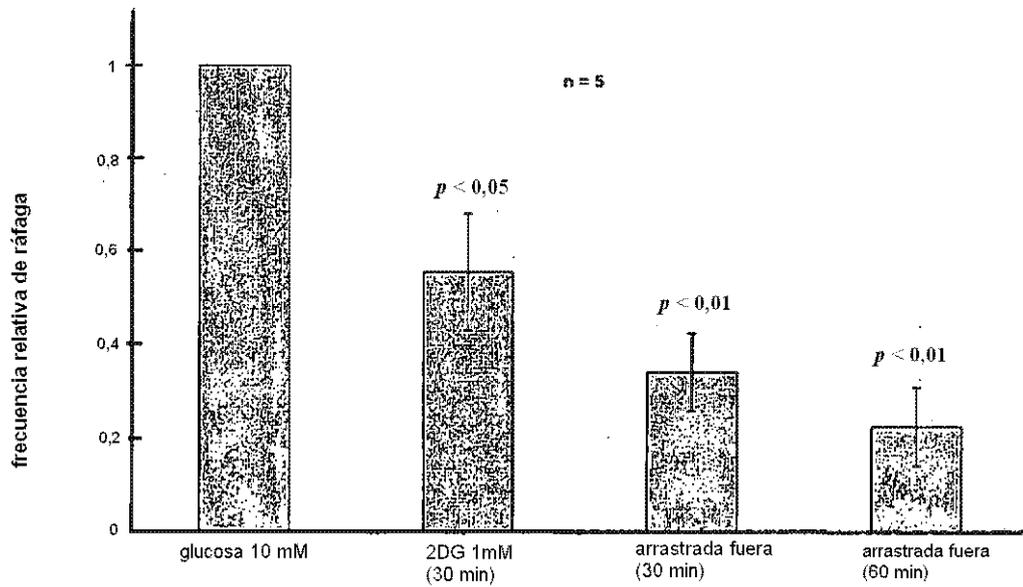


FIGURA 5C

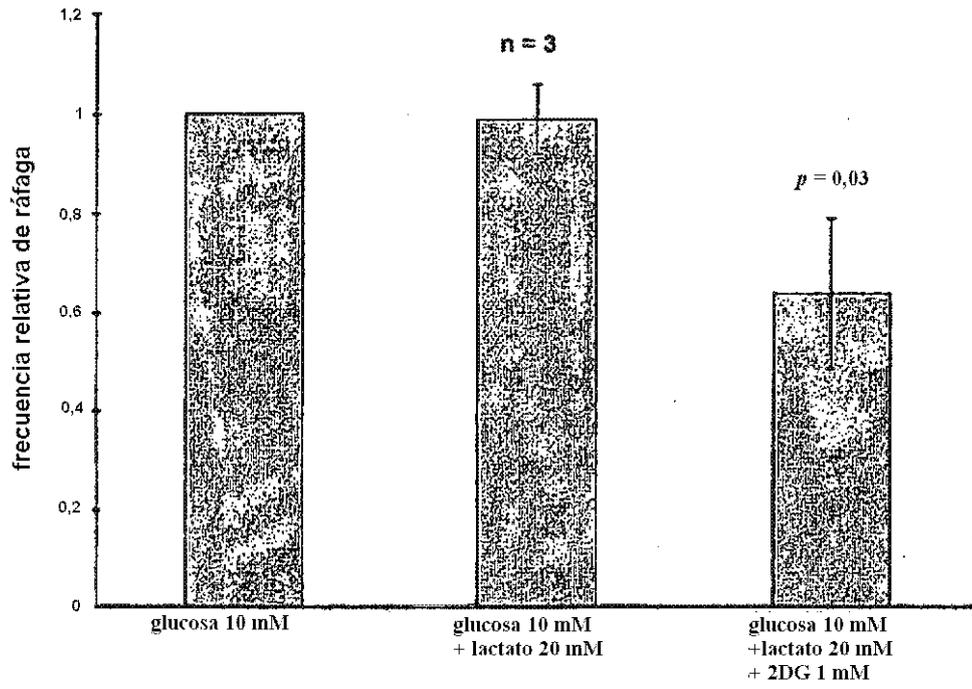


FIGURA 6

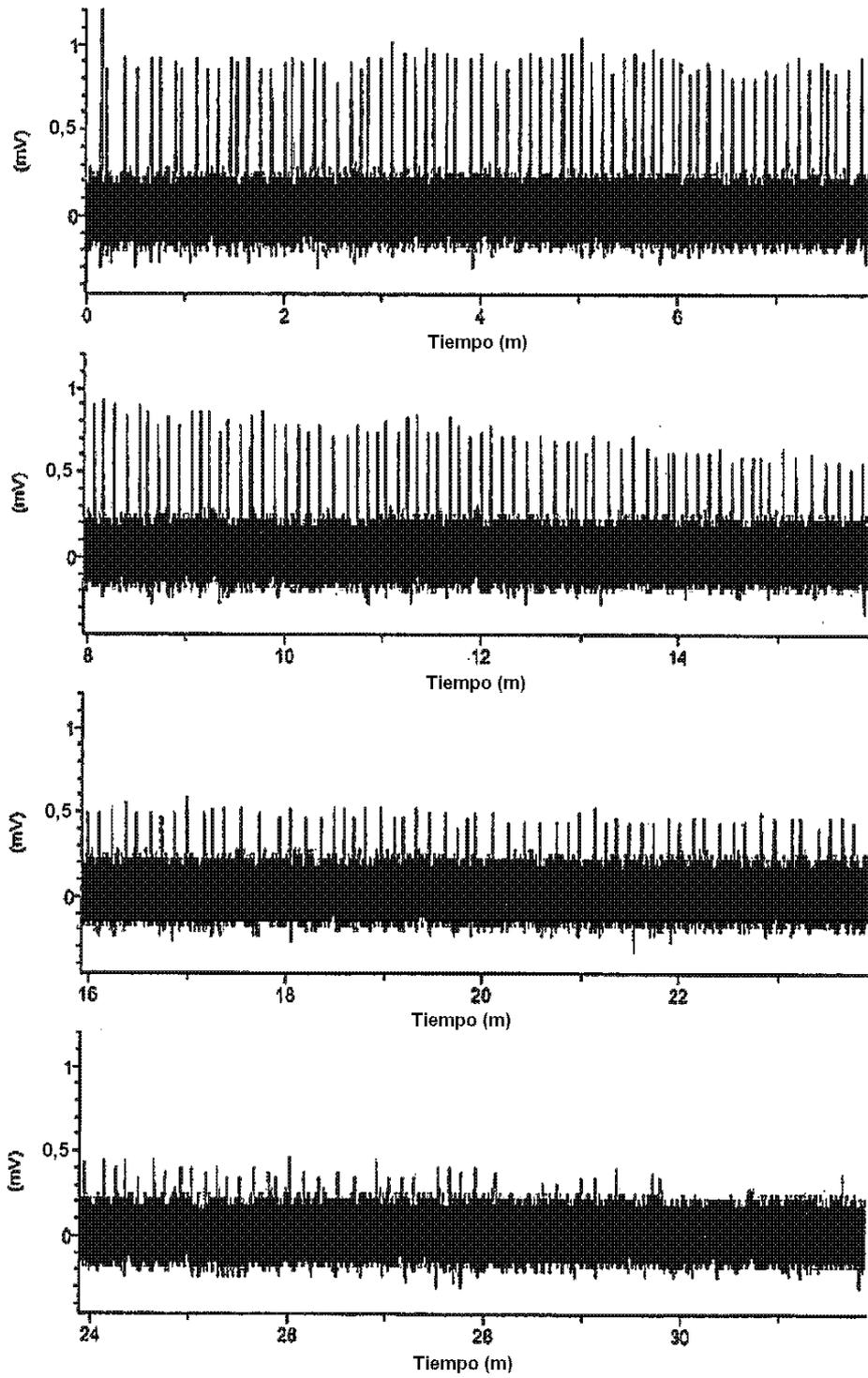


FIGURA 7

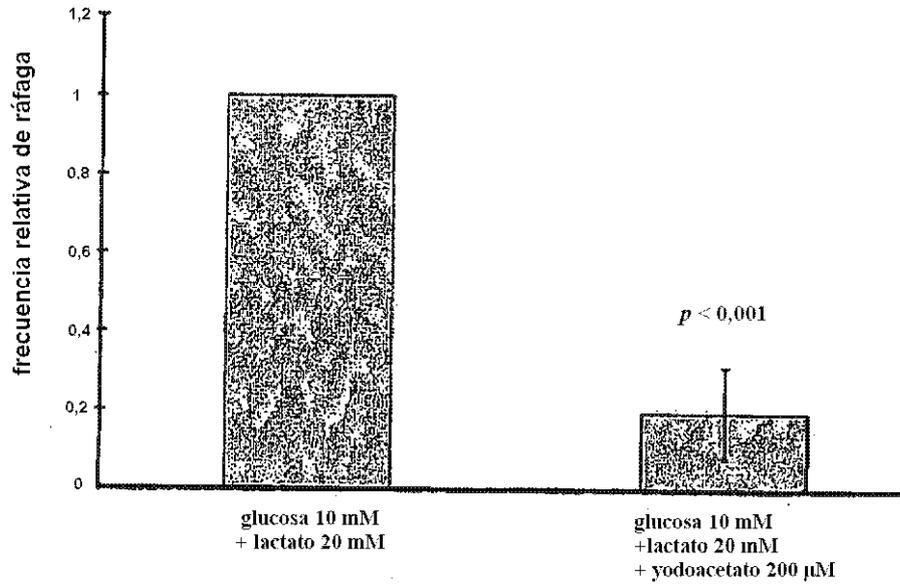


FIGURA 8

