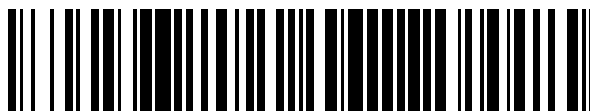


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 632 437**

51 Int. Cl.:

A61K 31/196 (2006.01)

A61K 31/198 (2006.01)

A61K 31/401 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.05.2012 PCT/US2012/039428**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.12.2012 WO12166544**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.05.2012 E 12724518 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017 EP 2714029**

54 Título: **Inhibidores del transportador de D-serina como composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central**

30 Prioridad:

27.05.2011 US 201161490652 P

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

13.09.2017

73 Titular/es:

**ALLERGAN, INC. (100.0%)
2525 Dupont Drive
Irvine, CA 92612, US**

72 Inventor/es:

**FOSTER, ALAN C.;
LI, YONG-XIN;
STAUBLI, URSULA;
VISWANATH, VEENA y
LUHRS, LAUREN**

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 632 437 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

Inhibidores del transportador de D-serina como composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central

Referencia cruzada para la solicitud relacionada

- 5 Esta solicitud está basada, y reivindica prioridad bajo 35 U.S.C. § 120 para la solicitud de patente provisional de EE.UU. n° 61/490.652 presentada el 27 de mayo de 2011.

Campo de la invención

10 La presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden inhibidores del transportador de D-serina y al uso terapéutico de dichas composiciones farmacéuticas en métodos para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central.

Antecedentes

15 Los circuitos neuronales en el sistema nervioso central se basan en la liberación de neurotransmisores químicos desde conexiones especializadas denominadas sinapsis para comunicación. El principal neurotransmisor excitador es el aminoácido glutamato, y la liberación de glutamato de un terminal presináptico provoca una respuesta mediante activación de varios tipos de receptores. Uno de los subtipos de receptores de glutamato, el receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), desempeña una función principal en la comunicación neuronal y en la plasticidad de respuestas sinápticas que ocurren tanto en condiciones fisiológicas como patofisiológicas.

20 Los receptores de NMDA son canales catiónicos controlados por ligandos compuestos por un montaje tetramérico de subunidades NR1, NR2 y NR3 (Paoletti y Neyton, 2007). Son únicos entre los receptores de neurotransmisores por que requieren ocupación de dos secuencias de reconocimiento para la activación. Una secuencia de aminoácidos ácidos donde se une el glutamato se encuentra en las subunidades NR2, y una secuencia de aminoácidos neutros (o coagonistas) se encuentra en la subunidad NR1. El coagonista endógeno para esta secuencia se creía originalmente que era la glicina, pero pruebas más recientes indicaron que la D-serina es también un coagonista endógeno. De hecho, en regiones del cerebro superiores la D-serina puede ser el coagonista dominante. La ocupación de la secuencia coagonista es esencial para el glutamato (o un análogo de glutamato) para activar el receptor NMDA, y en análisis naturales la eliminación de glicina o D-serina por enzimas degradantes aplicadas de manera exógena puede reducir o suprimir respuestas mediadas por el receptor NMDA. Por ejemplo, en el corte de hipocampo de rata, la aplicación de la enzima metabolizante de la D-serina, D-aminoácido oxidasa (D-AAO), evita completamente la inducción de la potenciación a largo plazo (LTP) una forma de plasticidad sináptica cuyo inicio depende de la activación del receptor NMDA (Yang *et al.*, 2003). Esto sugiere que el coagonista dominante en este caso es la D-serina, ya que la glicina no es un sustrato para D-AAO.

35 Los mecanismos que regulan la D-serina extracelular, y por consiguiente gobiernan cómo se activan los receptores de NMDA, no están bien comprendidos. Al mantener otros neurotransmisores y neuromoduladores, es probable que los transportadores en la superficie celular estén involucrados en la regulación de concentraciones sinápticas de D-serina. Los transportadores de aminoácidos normalmente prefieren L-aminoácidos, sin embargo se ha demostrado que la D-serina es un sustrato para determinados transportadores. Éstos comprenden el transportador heterodimérico asc-1 (SLC3A2/SLC7A10) que tiene afinidad micromolar por D-serina, ASCT2 (SLC1A5), ATB^{ot} (SLC7A9) y PAT1-4 (SLC36A1-4). Haciendo referencia a la localización histórica y celular, los candidatos para transportadores que regulan concentraciones sinápticas de D-serina son asc-1 (neuronal) y ASCT2 (glial). El transportador ASCT1 (SLC1A4) mencionado también se ha localizado en neuronas y glía, sin embargo se ha publicado que D-serina no es un sustrato para ASCT1 (Shafiqat *et al.*, 1993). Ninguno de estos transportadores son selectivos para D-serina, y sus sustratos son por lo general pequeños aminoácidos neutros tales como serina, alanina, cisteína y treonina. Además se conocen por funcionar como intercambiadores que pueden cambiar constantemente sus sustratos tanto dentro como fuera de las células. Por consiguiente, no queda claro si estos transportadores son responsables principalmente de la absorción neta o de la liberación neta de D-serina y otros sustratos. Considerando que asc-1 tiene la mayor afinidad conocida por D-serina, se ha pensado que este transportador es principalmente responsable de la eliminación de D-serina del espacio extracelular (Rutter *et al.*, 2007). En apoyo de esto, el ratón modificado genéticamente por por asc-1 tiene un fenotipo que incluye aumento de excitabilidad (Xie *et al.*, 2005).

50 En el SNC, los receptores de NMDA son mediadores importantes de neurotransmisión mediada por glutamato y de plasticidad sináptica. Los receptores de NMDA se encuentran en todo el cerebro y la médula espinal y se considera ampliamente que son esenciales para la fisiología neuronal (Traynelis *et al.*, 2010). Basándose en experimentos que utilizan D-AAO aplicada de manera exógena, se ha demostrado que la D-serina es un coagonista endógeno involucrado en respuestas sinápticas mediadas por el receptor NMDA en el prosencéfalo (Henneberger *et al.*, 2010; Fossat *et al.*, 2012). En muchas regiones del SNC, los receptores de NMDA intervienen como mediadores en el fenómeno de potenciación a largo plazo (LTP), una forma importante de plasticidad sináptica. La LTP NMDA dependiente del receptor es vista como un mecanismo de reforzamiento sináptico que es fundamental para la

creación y el mantenimiento de conexiones sinápticas apropiadas. En el hipocampo, por ejemplo, LTP se ha estudiado como un sustrato sináptico de aprendizaje y memoria (Citri y Malenka, 2007).

Determinados trastornos del SNC están relacionados con una deficiencia en la función del receptor NMDA . En esquizofrenia, se formuló la hipótesis de la hipofunción del receptor NMDA para explicar los "síntomas negativos" y funciones cognitivas reducidas que se producen en este trastorno mental y que son poco tratados por fármacos antipsicóticos tradicionales centrados en la dopamina. Los antagonistas de NMDA tales como PCP, cetamina y MK-801 reproducen síntomas esquizofrénicos en personas, apoyando la idea que la función reducida del receptor NMDA se produce en esta enfermedad (Coyle, 2006). Por consiguiente, están siendo investigadas actualmente estrategias terapéuticas para potenciar la función del receptor NMDA . Un ejemplo son los inhibidores de transportadores de glicina que son responsables de mantener concentraciones sinápticas de glicina. Ya que la glicina, como la D-serina, es un coagonista endógeno en el receptor NMDA , la inhibición de la reabsorción de glicina aumentará las concentraciones sinápticas de glicina y aumentará la función del receptor NMDA . Actualmente, los inhibidores del transporte de glicina están en la última etapa de los estudios clínicos para el tratamiento de la esquizofrenia (Field *et al.*, 2011). La propia D-serina se ha examinado en varias pequeñas pruebas de esquizofrenia como terapia complementaria con fármacos antipsicóticos (Labrie y Roder, 2010), con resultados positivos. Por consiguiente, los moduladores de transporte de D-serina descritos en esta memoria cabe esperar que sean de utilidad en el tratamiento de la esquizofrenia, y los inventores proporcionan apoyo preclínico para esta idea. Además, se ha demostrado que los compuestos que tienen capacidad para aumentar LTP mejoran el conocimiento en pacientes humanos (Lynch *et al.*, 2011). Los inventores demuestran en esta memoria que la modulación del transporte de D-serina potencia LTP no solamente en la corteza visual, sino además en el hipocampo, región del cerebro relacionada con el aprendizaje y la memoria. Por consiguiente, moduladores de transporte de D-serina serán útiles como agentes potenciadores cognitivos y pueden utilizarse para tratar enfermedades tales como la enfermedad de Alzheimer o cualquier trastorno del SNC donde se alteren las capacidades cognitivas.

Los documentos WO 03/077998, US 2002/010212 y US 2005/159488 describen la utilización de inhibidores de transporte de serina para el tratamiento de trastornos del SNC. Los inhibidores específicos del transportador de D-serina de la presente invención no están descritos en la presente memoria y no hay indicación para los inhibidores específicos.

Compendio de la invención

La presente invención se refiere a la utilización de composiciones farmacéuticas que comprenden compuesto(s) inhibidor(es) del transportador de D-serina en métodos para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central (SNC), como se define en las reivindicaciones.

Pueden utilizarse inhibidores de transporte de D-serina para tratar la esquizofrenia, el trastorno esquizofreniforme y el trastorno esquizoafectivo y afecciones específicamente seleccionadas entre las siguientes: trastorno del comportamiento, trastorno del comportamiento tipo agresivo solitario, tipo indiferenciado, trastorno de la Tourette, trastorno crónico de tic motor o vocal, trastorno de tic transitorio, trastorno de tic, abstinencia alcohólica, delirio, alucinosis alcohólica, demencia alcohólica por alcoholismo, intoxicación simpaticomimética por amfetamina o de actuación similar, delirio simpaticomimético por amfetamina o de actuación similar, trastorno delirante simpaticomimético por amfetamina o de actuación similar, trastorno delirante por marihuana, intoxicación por cocaína, delirio por cocaína, trastorno delirante por cocaína, alucinosis por alucinógenos, trastorno delirante por alucinógenos, trastorno del estado de ánimo por alucinógenos, trastorno perceptivo pos-alucinógenos, intoxicación con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, delirio con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno delirante con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno del estado de ánimo con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno mental orgánico con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, intoxicación con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, demencia con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno delirante con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, alucinosis con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno del estado de ánimo por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de ansiedad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de la personalidad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno orgánico mental por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio, demencia, trastorno orgánico delirante, alucinosis orgánica, trastorno orgánico de estado de ánimo, trastorno orgánico de ansiedad, trastorno orgánico de la personalidad, trastorno orgánico mental, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de ansiedad, trastorno dismórfico corporal, hipocondriasis (o neurosis hipocondríaca), trastorno de somatización, trastorno somatomorfo indiferenciado, trastorno somatomorfo, trastorno explosivo intermitente, cleptomanía, ludopatía, piromanía, tricotilomanía, y trastorno del control de impulsos, esquizofrenia catatónica, subcrónica, esquizofrenia catatónica, crónica, esquizofrenia catatónica, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, crónica, con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, en remisión, esquizofrenia catatónica, no especificada, esquizofrenia desorganizada, subcrónica, esquizofrenia desorganizada, crónica, esquizofrenia desorganizada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, en remisión, esquizofrenia desorganizada, no especificada, esquizofrenia paranoide, subcrónica, esquizofrenia paranoide, crónica, esquizofrenia paranoide, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia paranoide, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia

paranoide, en remisión, esquizofrenia paranoide, no especificada, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica, esquizofrenia indiferenciada, crónica, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, en remisión, esquizofrenia indiferenciada, no especificada, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, crónica, con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual en remisión, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, en remisión, esquizofrenia residual, no especificada, trastorno delirante (paranoide), psicosis reactiva breve, trastorno esquizofreniforme, trastorno esquizoafectivo, trastorno psicótico provocado, trastorno psicótico (psicosis atípica), trastornos de la personalidad, paranoides, trastornos de la personalidad, esquizoides, trastornos de la personalidad, de tipo esquizoide, trastornos de la personalidad, trastornos antisociales y de la personalidad, intermedios.

Pueden utilizarse inhibidores de transporte de D-serina para tratar a un paciente que padece uno o más tipos de trastorno cognitivo, tales como agnosia, amnesia, afasia, apraxia, delirio, demencia y un trastorno de aprendizaje.

"Tratar," como se emplea en esta memoria, significa tratar con medicamentos. Incluye, por ejemplo, administrar un compuesto de la invención para prevenir el inicio de un trastorno cognitivo, para aliviar su gravedad y para prevenir su repetición.

La expresión "trastorno cognitivo" como se emplea en esta memoria, significa cualquier afección caracterizada por una deficiencia en las actividades mentales relacionada con el pensamiento, el aprendizaje o la memoria. Ejemplos de dichos trastornos incluyen agnosias, amnesias, afasias, apraxias, delirios, demencias y trastornos del aprendizaje.

En algunos casos, la causa de un trastorno cognitivo puede ser desconocida o dudosa. En otros casos, el trastorno cognitivo puede estar relacionado con (esto es, producido por o suceder en la pérdida de neuronas u otras estructuras involucradas en la transmisión de señales entre neuronas. Por consiguiente, los trastornos cognitivos pueden estar asociados a enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, degeneración corticobasal, enfermedad de Creutzfeldt-Jacob, degeneración lobular frontotemporal, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, hidrocefalia normotensiva, síndrome orgánico cerebral crónico, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva o demencia senil (tipo Alzheimer); pueden estar asociados a traumatismos en el cerebro, tales como los causados por hematoma subdural crónico, conmoción, hemorragia, o a otras lesiones en el cerebro, tales como las causadas por infección (p. ej., encefalitis, meningitis, septicemia) o intoxicación con fármacos o drogadicción.

Los trastornos cognitivos también pueden estar asociados a otras afecciones que alteran el funcionamiento normal del sistema nervioso central, incluidos los trastornos psiquiátricos tales como los trastornos de ansiedad, neurosis histéricas, trastornos del estado de ánimo, esquizofrenia, y trastornos somatomorfo y facticio; también pueden estar asociados a afecciones del sistema nervioso periférico, tal como el dolor crónico.

Los inhibidores de transporte de D-serina pueden utilizarse para tratar agnosias, amnesias, afasias, apraxias, delirios, demencias, trastornos de aprendizaje y otros trastornos cognitivos independientemente de si su causa es conocida o no.

Ejemplos de demencias que pueden ser tratadas con los métodos de la invención comprenden complejo de la demencia del SIDA, enfermedad de Binswanger, demencia con cuerpos de Lewy, demencia frontotemporal, demencia multiinfarto, enfermedad de Pick, demencia semántica, demencia senil y demencia vascular.

Ejemplos de trastornos del aprendizaje que pueden ser tratados con los métodos de la invención comprenden el síndrome de Asperger, trastorno por déficit de atención, trastorno por déficit de atención e hiperactividad, autismo, trastorno desintegrativo infantil y síndrome de Rett.

Ejemplos de afasia que pueden ser tratados con los métodos de la invención comprenden la afasia progresiva no fluente. Los compuestos descritos en esta memoria pueden utilizarse además para tratar pacientes que tienen deficiencias en actividades mentales que son leves o que de otra manera no interfieren significativamente en la vida diaria. La deficiencia cognitiva leve es un ejemplo de dicha afección: un paciente con deficiencia cognitiva leve presenta síntomas de demencia (p. ej., dificultades con el lenguaje o la memoria) pero la gravedad de estos síntomas es tal que un diagnóstico de demencia puede no ser apropiado. Los compuestos descritos en esta memoria pueden utilizarse para tratar la deficiencia cognitiva leve y otras formas similares menos graves de trastornos cognitivos.

Descripción de los dibujos

La tabla 1 presenta la capacidad de aminoácidos seleccionados para inhibir el transporte de D-serina en las neuronas (sinaptosomas de cerebro de rata) y glía (astrocitos de hipocampo de rata). Los valores son la concentración de aminoácidos necesaria para inhibir el 50% de transporte de [³H]D-serina (CI₅₀) en μM, y son los recursos de al menos dos determinaciones. L-GPNA: L-γ-nitrofenil-glutamil-anilida.

- La figura 1A representa un gráfico que presenta el registro electrofisiológico de cortes de hipocampo de rata y que demuestra que L-40HPG (L-4-hidroxifenilglicina) potencia las corrientes postsinápticas excitadoras mediadas por el receptor NMDA (EPSC_{NMDA}). El experimento representativo demuestra que el efecto de potenciación de L-40HPG (1.000 μ M) dura una hora y a continuación vuelve a los valores iniciales en el tampón de referencia. 1.000 es la concentración de L-40HPG en μ M y 22% se refiere al aumento en porcentaje en la amplitud de EPSC_{NMDA}. Los puntos representan las amplitudes de EPSC_{NMDA}. <Los triángulos negros representan la referencia; los círculos blancos representan 7-CKY 1 μ M y los círculos negros representan L-40HPG 1.000 μ M. 7-CKY es un inhibidor competitivo en la secuencia de D-serina del receptor NMDA, que inhibe las EPSC mediadas por el receptor NMDA y aumenta la sensibilidad de EPSC_{NMDA} a la D-serina.
- La figura 1B representa un gráfico que presenta un compendio de datos que muestran los efectos en función de la dosis de L-40HPG sobre EPSC_{NMDA}.
- La figura 2A representa un gráfico que demuestra que L-40HPG facilita la potenciación a largo plazo (LTP) en función de la dosis en la corteza visual principal de las ratas.
- La figura 2B representa un gráfico que presenta los resultados de la exposición cortes de corteza visual a D-aminoácido oxidasa (DAAO), enzima que degrada selectivamente D-serina extracelular. Los datos sugieren que el aumento de L-40HPG por LTP en el corte de corteza visual de ratas depende de la D-serina extracelular.
- La figura 3A representa un gráfico que presenta la correlación entre la capacidad de los compuestos para inhibir el transporte de D-serina neuronal y la concentración umbral necesaria para aumentar la LTP en el corte de corteza visual. El valor r^2 (coeficiente de correlación) y el valor p (probabilidad) indica que no existe correlación significativa.
- La figura 3B representa un gráfico que presenta la correlación entre la capacidad de los compuestos para inhibir el transporte de D-serina de los astrocitos y la concentración umbral necesaria para aumentar la LTP en el corte de corteza visual. El valor r^2 (coeficiente de correlación) y el valor p (probabilidad) indica que no existe una correlación muy significativa.
- La figura 4 representa un gráfico que presenta la inhibición del componente 2 de transporte de D-serina en astrocitos por L-glutamina y L-trans-4-hidroxiprolina (L-t-4OHPro) y valores de CI_{50} para cada uno de los componentes. Las curvas de inhibición del componente 2 se ajustaron utilizando un algoritmo disponible en GraphPad Prism 4. El "componente 1" es el componente de alta afinidad y el "componente 2" es el componente de baja afinidad. "Fracción" se refiere a la proporción en que cada componente contribuye a la inhibición total.
- La figura 5 representa un gráfico que presenta la inhibición de transporte en estirpes celulares HEK que expresan ASCT1 y ASCT2 por L-glutamina y L-t-4OHPro.
- La figura 6A representa un gráfico que presenta el transporte de [³H]D-serina en células HEK que expresan ASCT1 o ASCT2. El transporte se midió en presencia (referencia) y en ausencia (cero de Na) de sodio extracelular.
- La figura 6B representa un gráfico que presenta la inhibición del transporte de [³H]L-serina en astrocitos y células HEK que expresan ASCT1 y ASCT2 por D-serina.
- La tabla 2 presenta valores de CI_{50} para la inhibición del transporte de [³H]L-serina en astrocitos y células HEK que expresan ASCT1 o ASCT2 humano recombinado. Los valores son las CI_{50} en μ M de las curvas de inhibición de 6-12 puntos, con una n de al menos 2. Para L-trans-4-hidroxiprolina (L-t-4OHPro) y L-GPNA, estaban presentes dos componentes de inhibición en el ensayo de astrocitos, y los *valores se presentan para los componentes de alta y baja afinidad. Para comparación, se muestran las concentraciones para el aumento de LTP en cortes de corteza visual de rata.
- La figura 7 representa la correlación de los valores de CI_{50} de los ensayos de transporte (véase la table 2 y explicación adjunta) con los datos del umbral de LTP (véase la figura 2A y explicación adjunta). El gráfico A presenta la correlación entre los valores de CI_{50} para el transportador de ASCT1 (también conocido como SLC1A4) y los datos umbral de LTP; el gráfico B presenta la correlación entre los valores de CI_{50} para el transportador de ASCT2 (también conocido como SLC1A5) y los datos umbral de LTP; el gráfico C presenta la correlación entre el producto de ambos valores de CI_{50} de ASCT1 y ASCT2 y los datos umbral de LTP a fin de tener en cuenta cómo las contribuciones de ambos transportadores pueden ser importantes para producir el aumento de LTP (este gráfico da la mejor correlación y sugiere que la inhibición de ambos transportadores, conduce al aumento óptimo de LTP).
- La figura 8 representa un gráfico que demuestra que L-GPNA 100 μ M aumenta LTP en la preparación del corte de hipocampo de rata.
- La figura 9 representa un gráfico que demuestra que L-40HPG reduce la hiperlocomoción provocada por Anfetamina en ratones, un modelo de esquizofrenia. (A) recuentos de actividad durante el tiempo entre los grupos tratados con solución salina y fármaco. (B) actividad total medida entre 50 y 100 minutos para los grupos tratados con solución salina y fármaco.

La figura 10 representa un gráfico que demuestra que L-4FPG reduce la hiperlocomoción provocada por anfetamina en ratones, un modelo de esquizofrenia. (A) recuentos de actividad durante el tiempo entre los grupos tratados con solución salina y fármaco. (B) actividad total medida entre 50 y 100 minutos para los grupos tratados con solución salina y fármaco.

5 La figura 11 representa un gráfico que demuestra que R-gamma (2,4-diclorobencil)-L-prolina (DCBPro) reduce la hiperlocomoción provocada por anfetamina en ratones, un modelo de esquizofrenia. (A) recuentos de actividad durante el tiempo entre los grupos tratados con solución salina y fármaco. (B) actividad total medida entre 50 y 100 minutos para los grupos tratados con solución salina y fármaco.

10 La figura 12 representa un gráfico que demuestra que L-4OHPG tiene un efecto significativo sobre la inhibición del pulso alterado en el ratón, un modelo de esquizofrenia. (A) Efectos de D-serina (600 mg/kg) y L-4OHPG (15 mg/kg) sobre PPI a tres intensidades diferentes. (B) Falta de efecto de D-serina (600 mg/kg) y L-4OHPG (15 mg/kg) sobre respuesta al sobresalto.

Descripción detallada de la invención

15 En un aspecto la invención se refiere a un método para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central causados por una deficiencia en la función del receptor N-metil-D-aspartato, método que comprende administrar a un paciente necesitado del mismo una composición farmacéutica aceptable que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos inhibidores del transportador de D-serina

Uno o más compuestos inhibidores del transportador de D-serina se seleccionan de L-gamma-glutamyl-4-nitroanilida, L-4-fluorofenilglicina, trans-4-hidroxi-L-prolina y R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina.

20 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto inhibidor del transportador de D-serina y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptable, todo como se define en las reivindicaciones.

25 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de compuestos como se especifica en las reivindicaciones en un método para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central causados por una deficiencia en la función del receptor de N-metil-D-aspartato, método que comprende la administración a un paciente necesitado del mismo de una composición farmacéutica aceptable que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno o más compuestos inhibidores de ASCT1 y al menos uno o más compuestos inhibidores de ASCT2.

30 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos uno o más inhibidores de ASCT1 y/o al menos uno o más inhibidores de ASCT2 y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables, todo como se define en las reivindicaciones.

35 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de L-gamma-glutamyl-4-nitroanilida y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, como se define en las reivindicaciones.

40 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de L-4-fluorofenilglicina y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, como se define en las reivindicaciones.

En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de trans-4-hidroxi-L-prolina y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, como se define en las reivindicaciones.

45 En otro aspecto la invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende como ingrediente activo una cantidad terapéuticamente eficaz de R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina y un adyuvante, diluyentes o excipiente farmacéuticamente aceptables para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, como se define en las reivindicaciones.

50 En otro aspecto, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden inhibidores del transportador de D-serina y métodos terapéuticos que utilizan dichas composiciones farmacéuticas en métodos para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, como se define en las reivindicaciones.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a la utilización de un método para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central que comprende la administración de uno o más inhibidores del transportador de D-serina por diferentes vías de administración. Los inhibidores del transportador de D-serina fueron identificados como

compuestos que inhiben mecanismos de transporte en neuronas y astrocitos, en ensayos de transporte de D-serina *in vitro*.

5 En otro aspecto la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto inhibidor del transportador de D-serina como se definió anteriormente, estando dicho compuesto presente solo o en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

10 En otro aspecto la presente invención se refiere a la utilización de una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto seleccionado del grupo consistente en inhibidor de ASCT1 y un inhibidor de ASCT2, estando dichos compuestos presentes solos o en combinación con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

La cantidad real del compuesto que debe administrarse en cualquier caso dado deberá ser determinada por un médico teniendo en cuenta las circunstancias relevantes, tales como la gravedad de la enfermedad, la edad y el peso del paciente, el estado físico general del paciente, la causa de la enfermedad y la vía de administración.

15 Al paciente debe administrarse el compuesto por vía oral en cualquier forma aceptable, tal como un comprimido, líquido, cápsula, polvo y similares, u otras vías puede ser deseables o necesarias, especialmente si el paciente padece náuseas. Dichas otras vías pueden incluir, sin excepción, los modos de administración transdérmica, parenteral, subcutánea, intranasal, mediante una endoprótesis, intratecal, intravítrea, tópica para los ojos, fondo del ojo, parte frontal del ojo, intramuscular, intravenosa e intrarrectal. Además, las formulaciones pueden estar diseñadas para retardar la liberación del compuesto activo durante un periodo dado, o para controlar minuciosamente la cantidad de fármaco liberada en un tiempo dado durante el transcurso del tratamiento.

20 En otra realización de la invención, se proporcionan composiciones farmacéuticas incluido al menos un compuesto de la invención en uno de sus vehículos farmacéuticamente aceptables. La expresión "farmacéuticamente aceptable" significa el vehículo, diluyente o excipiente debe ser compatible con los demás ingredientes de la formulación y no ser perjudicial para el receptor del mismo.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden usarse en forma sólida, de disolución, emulsión, dispersión, parche, micelas, liposomas y similares, en donde la composición resultante contiene uno o más compuestos de la presente invención, como un ingrediente activo, en mezcla con un vehículo o excipiente orgánico o inorgánico adecuado para aplicaciones enterales o parenterales. Los compuestos de la invención pueden combinarse, por ejemplo, con los vehículos atóxicos, farmacéuticamente aceptables, para comprimidos, gránulos, 30 cápsulas, supositorios, disoluciones, emulsiones, suspensiones y cualquier otra forma adecuada para el uso. Los vehículos que pueden usarse incluyen glucosa, lactosa, goma arábiga, gelatina, manitol, pasta de almidón, trisilicato de magnesio, talco, almidón de maíz, queratina, sílice coloidal, almidón de patata, urea, triglicéridos de longitud de cadena media, dextranos y otros vehículos adecuados para el uso en la fabricación de preparados, en forma sólida, semisólida o líquida. Además pueden usarse agentes auxiliares, de estabilización, de espesamiento y colorantes y perfumes. En la composición farmacéutica se incluyen compuestos de la invención en una cantidad suficiente para producir el efecto deseado en el proceso o enfermedad.

35 Las composiciones farmacéuticas que contienen compuestos de la invención puede estar en una forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, grageas, pastillas, suspensiones acuosas o aceitosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas o jarabes o elixires. Las composiciones deseadas para uso oral pueden prepararse según cualquier método conocido en la técnica para la preparación de composiciones farmacéuticas y dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo consistente en un agente edulcorante tal como sacarosa, lactosa o sacarina, agentes potenciadores de sabor tales como menta, aceite de gualteria o cereza, agentes colorantes y agentes conservantes a fin de proporcionar preparados farmacéuticamente refinados y agradables al paladar. Los comprimidos que contienen compuestos de la invención 45 mezclados con excipientes atóxicos, farmacéuticamente aceptables pueden prepararse también por métodos conocidos. Los excipientes utilizados pueden ser, por ejemplo, (1) diluyentes inertes tales como carbonato cálcico, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico; (2) agentes de granulación y disgregación tales como almidón de maíz, almidón de patata o ácido algínico; (3) agentes aglutinantes tales como goma tragacanto, almidón de maíz, gelatina o goma arábiga, y (4) agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos por técnicas conocidas para retardar la disgregación y absorción en el tubo digestivo y de esta manera proporcionar una acción mantenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, puede emplearse un material retardante tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

50 En algunos casos, las formulaciones para uso oral pueden estar en forma de cápsulas de gelatina dura en donde los compuestos de la invención se mezclan con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato, fosfato cálcico o caolín. Pueden estar también en forma de cápsulas de gelatina blandas en donde los compuestos de la invención se mezclan con agua o medio aceitoso, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de suspensión inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular según métodos conocidos utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. El preparado inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como disolución en 1,3-butanodiol. Se emplean convencionalmente aceites fijos esterilizados como disolvente o medio de suspensión. Con este fin puede emplearse cualquier aceite suave fijo incluidos los mono- o diglicéridos sintéticos, ácidos grasos (incluido el ácido oleico), aceites vegetales de origen natural como el aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de cacahuete, aceite de semillas de algodón, etc., o vehículos grasos sintéticos como el oleato de etilo o similares. Pueden incorporarse tampones, conservantes, antioxidantes y similares según se requiera.

Compuestos inhibidores del transportador de D-serina pueden administrarse también en forma de supositorios para administración rectal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse mezclando los compuestos de la invención con un excipiente adecuado, tal como manteca de cacao, ésteres de glicéridos sintéticos de polietilenglicoles, que son sólidos a temperaturas ordinarias, pero que se licúan y/o disuelven en la cavidad rectal para liberar el fármaco.

Ya que cada uno de los pacientes puede presentar una amplia variación en la gravedad de los síntomas y cada fármaco tiene sus características terapéuticas exclusivas, el modo preciso de administración y posología empleado para cada paciente se deja a discreción del médico.

Una composición farmacéutica aceptable es la que puede administrarse por cualquier vía a un paciente que lo necesite. Debe maximizarse el alivio al paciente que se administra la composición, pero otras consideraciones, tal como la estabilidad del fármaco, pueden necesitar una composición farmacéutica que proporcione menos que el alivio óptimo. En tal caso, la composición debe formularse de manera que sea tolerable para un paciente al que se administra la composición farmacéutica.

La composición farmacéutica reivindicada puede administrarse por vía tópica en forma de soluciones o suspensiones, pomadas, geles, cremas, etc. Un "excipiente farmacéuticamente aceptable" es el que es compatible con el principio activo de la composición y no es perjudicial para el individuo al que se está administrando la composición farmacéutica.

Los expertos en la técnica comprenderán fácilmente que un fármaco que contiene uno o más de los compuestos descritos en esta memoria pueden prepararse en forma de polvo, píldora, comprimido o similares, o en forma de solución, emulsión, suspensión, aerosol, jarabe o elixir adecuados para administración oral o parenteral o inhalación. Para formas farmacéuticas o medicamentos sólidos, los excipientes sólidos atóxicos para mezclar con compuestos descritos en esta memoria incluyen, pero no están limitados a, calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, polialquilenglicoles, talco, celulosa, glucosa, sacarosa y carbonato de magnesio. Las formas farmacéuticas sólidas pueden estar recubiertas por un material tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, que se utiliza en conocidas técnicas para retardar la disgregación y absorción en el tubo digestivo a fin de proporcionar una acción mantenida durante un periodo más largo. Las formas farmacéuticas sólidas pueden estar también recubiertas por las técnicas descritas en las patentes de EE.UU. nº 4.256.108, nº 4.166.452 y nº 4.265.874, para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para liberación controlada.

Formas farmacéuticas líquidas farmacéuticamente administrables pueden, por ejemplo, comprender una solución o suspensión de al menos uno de los compuestos descritos en esta memoria y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo, tales como agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, etanol y similares. Las formas farmacéuticas líquidas pueden contener además sustancias auxiliares atóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponantes de pH y similares. Ejemplos de dichos agentes auxiliares comprenden acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, trietanolamina, acetato de sodio, oleato de trietanolamina, etc. Los procedimientos para preparar dichas formas farmacéuticas son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Reminton's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 16ª edición, 1980).

La administración parenteral se caracteriza generalmente por inyección subcutánea, intramuscular o intravenosa. Pueden prepararse inyectables en forma de soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas que pueden redisolverse en soluciones o suspensiones antes de la inyección, o en forma de emulsiones. Los excipientes adecuados incluyen agua, solución salina, dextrosa, glicerol, etanol y similares. Dichas composiciones farmacéuticas inyectables pueden contener además cantidades menores de sustancias auxiliares atóxicas tales como agentes humectantes o emulsionantes, tampones de pH y similares.

Los ejemplos mencionados en esta memoria no pretenden limitar el alcance de la invención en modo alguno.

Utilizando ensayos de transporte de D-serina *in vitro*, los inventores han identificado compuestos que inhiben mecanismos de transporte en neuronas y astrocitos. En la tabla 1 se muestran las actividades de análogos de aminoácidos para inhibir el transporte de D-serina. En las condiciones del ensayo utilizadas, el transporte de D-serina independiente del sodio por sinaptosomas de prosencéfalo de roedor está mediado por asc-1 (Rutter *et al.*, 2007), y el transporte de D-serina dependiente del sodio en astrocitos en cultivo está mediado por un transportador de ASCT, ASCT2 según la bibliografía (Ribeiro *et al.*, 2002).

Los datos de la tabla 1 demuestran que el transporte de D-serina en las neuronas y en astrocitos puede distinguirse farmacológicamente. Pudieron seleccionarse análogos de glutamina, fenilglicina, asparagina, cisteína y prolina entre los dos sistemas de transporte.

Para determinar los efectos de inhibición de transporte en la función de receptor NMDA, se probó la capacidad de los compuestos para afectar respuestas sinápticas mediadas por el receptor NMDA en preparados de corte de cerebro. Corrientes post-sinápticas excitadoras (EPSC) mediadas por el receptor NMDA potenciado con L-4-hidroxifenilglicina (L-4OHPG) en la región CA1 del hipocampo (figura 1A y figura 1B). En el corte de corteza visual, la LTP provocada por estimulación a ráfagas theta aumentó por L-4OHPG. L-4OHPG aumentó LTP en función de la concentración, y sus efectos se evitaron completamente por la inclusión de D-AAO en el medio de perfusión, lo que indica que su capacidad para aumentar la plasticidad sináptica dependía de la D-serina extracelular (figura 2B). Sobre todo, ninguno de los compuestos identificados como inhibidores de transporte de D-serina tuvo efectos directos significativos sobre el receptor NMDA (u otros subtipos de receptor de glutamato) como se evaluó en neuronas de hipocampo cultivadas.

En un intento de comprender las contribuciones relativas de los transportadores de D-serina neuronal y de astrocitos a la capacidad observada de compuestos para aumentar las respuestas mediadas por el receptor NMDA, se hicieron correlaciones entre los efectos de los compuestos en los ensayos de transporte y en el ensayo de LTP en corte de corteza visual. Se encontró una escasa correlación entre los efectos en el ensayo de transporte neuronal y LTP (figura 3A, $r^2 = 0,047$) sin embargo existió excelente correlación entre los efectos en el ensayo de transporte de astrocitos y LTP (figura 3B, $r^2 = 0,902$). Esto indicó que los transportadores presentes en los astrocitos son los que regulan la D-serina extracelular para influir en los episodios sinápticos mediados por el receptor NMDA.

Se ha publicado que el transportador de D-serina dependiente de sodio en astrocitos es ASCT2 (Ribeiro *et al.*, 2002). En los experimentos de transporte de D-serina en astrocitos, los inventores observaron que algunos compuestos producían curvas de inhibición que presentaban dos componentes, lo que sugería que estaba presente más de un componente de transporte. En particular, dos compuestos definían los dos componentes. L-glutamina presentó mayor afinidad por un componente que representaba aproximadamente el 40% del transporte de D-serina, y L-trans-4-hidroxiprolina (L-t-4OHPro) presentó mayor afinidad por un componente que representaba aproximadamente el 60% del transporte de D-serina (figura 4). Los estudios de competencia con cada uno de estos compuestos en presencia del otro indicaron que L-glutamina tenía alta afinidad por el componente con baja afinidad por L-t-4OHPro y viceversa. Los estudios de PCR han indicado que ambos subtipos de transportador ASCT1 y ASCT2 están presentes en los astrocitos (Yamamoto *et al.*, 2004). Sin embargo, la expresión funcional de ASCT1 y ASCT2 en sistemas heterólogos ha indicado que, a diferencia de ASCT2, ASCT1 no transporta D-serina (Shafiqat *et al.*, 1993). Se ha publicado que la L-glutamina tiene gran afinidad por ASCT2 (intervalo de 23-70 μM ; Utsunomiya-Tate *et al.*, 1996; Broer *et al.*, 1999; Torres-Zamorano *et al.*, 1998), y un artículo indica que L-t-4OHPro tiene gran afinidad por ASCT1 (Pinilla-Tenas *et al.*, 2003). Los inventores confirmaron la selectividad de L-glutamina y L-t-4OHPro por los subtipos de ASCT examinando el transporte en células HEK que expresan heterológicamente ASCT1 y ASCT2 humanas. Para estos experimentos, se utilizó [^3H]L-serina ya que es un sustrato de gran afinidad para ambos subtipos. Como se muestra en la figura 5, L-glutamina inhibió el transporte y mostró selectividad para con ASCT2, mientras que L-t-4OHPro mostró selectividad para con ASCT1. Por consiguiente, lo más probable es que los dos componentes de transporte observados en los astrocitos representen a ASCT1 (L-t-4OHPro-preferente) y ASCT2 (L-glutamina-preferente). Si este es el caso, sin embargo, debe sugerirse que ASCT1 transporta en efecto D-serina, contrariamente al artículo de la bibliografía (Pinilla-Tenas *et al.*, 2003). Para investigar esto, los inventores examinaron el transporte en células HEK que expresan ASCT1. Como se muestra en la figura 6A, se transportó [^3H]D-serina en células HEK que expresan ASCT1 en función del sodio y en una medida similar al transporte observado en células HEK que expresan ASCT2. Además, el transporte de [^3H]L-serina fue inhibido completamente por D-serina en astrocitos y las estirpes celulares HEK que expresan ASCT1 y ASCT2 (figura 6B) como cabría esperar si D-serina interactúa con ambos subtipos de transportador. Por consiguiente, los inventores han descubierto que D-serina es en efecto un sustrato para ASCT1 con una afinidad similar a la de para ASCT2.

Dada esta evidencia de que el transporte en astrocitos está mediado tanto por ASCT1 como por ASCT2, los inventores necesitaban determinar, cuál de estos subtipos de transportador es principalmente responsable de la inhibición del transporte de D-serina que conduce a la mejora observada de LTP. Para responder a esto, los inventores examinaron la capacidad de los inhibidores identificados en el ensayo de transporte de astrocitos y que mejoran LTP al inhibir el transporte en las células HEK que expresan cada subtipo de ASCT. Como se muestra en la tabla 2, L-glutamina y el análogo de L-glutamina, L-gamma-glutamyl-4-nitroanilida (L-GPNA), eran selectivos para ASCT2. L-trans-4OHPro fue selectivo para ASCT1. Los análogos de fenilglicina, isómeros de serina, asparagina y ciclopropilglicina presentaron igual capacidad para inhibir ambos subtipos. Las correlaciones entre los valores de CI_{50} para inhibición del transporte en los subtipos y las concentraciones umbral para aumentar la LTP reflejaron ninguna correlación significativa con ASCT1 (figura 7a) sino una correlación significativa con ASCT2 (figura 7b), sin embargo la mejor correlación se obtuvo cuando se consideró la contribución de ambos subtipos (producto de las CI_{50} para ambas ASCT1 y ASCT2; figura 7c). Esto sugiere que ambos subtipos son importantes para el aumento de LTP y que los inhibidores de doble subtipo son los compuestos más eficaces.

Ejemplos de inhibidores del transportador de D-serina

Se ha descubierto que determinados aminoácidos de la familia glicina/alanina, de la familia glutamina/asparagina, de la familia del triptófano, de la familia de la fenilglicina, de la familia de la fenilalanina, de la familia de la cisteína, de la familia serina/treonina, de la familia de aminoácidos cíclicos y de la familia de la prolina son ejemplos de inhibidores del transportador de D-serina.

Los siguientes son ejemplos no restrictivos de inhibidores del transportador de D-serina que son útiles en la puesta en práctica de la presente invención, en cuanto a lo explícitamente mencionado en las reivindicaciones. Los aminoácidos que fueron probados para las propiedades de inhibición del transporte de D-serina se adquirieron en Sigma-Aldrich, Tocris Bioscience, Tyger Chemical Scientific, Bachem, ChemBridge Corporation, Matrix Scientific, PI Chemicals Inc., Toronto Research Chemicals y Maybridge Chemicals.

Tabla de compuestos activos por la familia de aminoácidos

Criterio para actividad: $\geq 25\%$ de inhibición de transporte de [^3H]D-serina en astrocitos de hipocampo de rata a 1 mM	
Familia glicina/alanina	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
glicina	
alanina	L
2-aminobutirato	L
2-alilglicina	DL
valina	L
3-(metilamino)alanina	L
ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico	
ácido 1-aminociclobutano-1-carboxílico	
ácido 1-aminociclopentano-1-carboxílico	
α -ciclopropilglicina	L
fenilglicina	L
tetrazol-5-il-glicina	DL
3-tienilglicina	L
ácido aminociclohexilacético	L
ácido aminofuran-2-ilacético	L
ácido amino-(2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6-il)acético	DL
ácido aminonaftalen-1-il acético	L
ácido aminobiciclo[2.2.1]hept-5-en-2-il acético	DL
dihidrofénilglicina	D

ácido 1-adamantil(amino)acético	
ácido 2-aminoadamantin-2-carboxílico	
3-benzoilalanina	DL
3-(2-tienil)-alanina	L
3-ciclopentil-alanina	L
3(2-naftil)-alanina	L
3-benzotienilalanina	L
azidohomoalanina	L
homopropargilglicina	L
valina	L
norvalina	L
alanina	D
Familia Glutamina/Asparagina	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
glutamina	L
glutamato- γ -hidroxamato	L
glutamato- γ -4-nitroanilida	L
glutamato- γ -anilida	DL
glutamato- γ -(α -naftilamida)	L
glutamato- γ -(β -naftilamida)	L
glutamato- γ -(β -naftilamida)	L
éster glutamato- γ -metílico	L
éster glutamato- γ -etílico	L
asparagina	L
asparagina	D
N-4-fenilasparagina	DL
quinurenina	L
quinurenina	D
3-hidroxi-quinurenina	DL

4-etiléster del ácido 2-amino-succínico	DL
éster bencílico de aspartato	L
6-diazo-5-oxo-norleucina	L

Familia del triptófano	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
triptófano	L
6-fluorotriptófano	DL
5-fluorotriptófano	L
4-fluorotriptófano	DL
5-hidroxitriptófano	L
Familia de la fenilglicina	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
fenilglicina	L
4-hidroxifenilglicina	L
4-fluorofenilglicina	L
4-metoxifenilglicina	DL
ácido amino-(4-nitro-fenil)-acético	DL
4-trifluorometilfenilglicina	L
3-hidroxifenilglicina	L
ácido amino-(3-fluoro-fenil)-acético	DL
ácido amino-(3-bromo-fenil)-acético	DL
3-trifluorometilfenilglicina	DL
ácido amino-(3-nitrofenil)-acético	DL
2-fluorofenilglicina	DL
ácido amino-o-tolil-acético	L
2-clorofenilglicina	DL
3,4-difluorofenilglicina	DL

3-cloro-4-fluorofenilglicina	DL
3-fluoro-4-metilfenilglicina	DL
4-fluoro-3-metilfenilglicina	DL
3-carboxi-4-hidroxifenilglicina	L
2-Cl, 5-OH-fenilglicina	DL
3,4-dihidroxifenilglicina	DL
3,5-dihidroxifenilglicina	DL
4-carboxi-3-hidroxifenilglicina	DL
éster metílico de 2-fenilglicina	L
ácido (4-metoxifenil)(metilamino)acético	DL
2-hidroxifenilglicina	DL
ácido amino-(2,3-dihidrobenzo[1,4]dioxin-6-il)acético	DL
ácido amino-benzo[1,3]dioxol-5-il-acético	DL
ácido 2-amino-2-[3-hidroxi-4-(hidroximetil)fenil]acético	DL
ácido (4-fluorofenil)-morfolin-4-il-acético	DL
ciclopropilalanina	L

Familia de fenilalanina

<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
homofenilalanina	L
ácido 2-amino-5-fenilpentanoico	L
4-hidroxifenilalanina	L
3,4-dihidroxifenilalanina	L
ácido quiscuálico	L

Familia de la cisteína

<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
cisteína	L
S-metil-cisteína	L

S-etil-cisteína	L
S-fenil-cisteína	L
S-bencil-cisteína	L
S-(4-metilfenil)-cisteína	L
penicilamina	L
homocisteína	L
Familia serina/treonina	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
serina	L
serina	D
treonina	L
treonina	D
treonina	L-alo
treonina	DL-alo
O-metilserina	DL
O-acetilserina	L
bencilserina	L
beta (2-tienil)serina	DL
3-piridilserina	DL
éster metílico de serina	L
serina-beta-naftilamida	L
metionina	L
4-hidroxi-isoleucina	L
homoserina	D
homoserina	L
Familia de aminoácidos cíclicos	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>

1-amino-1-carboxiciclopropano	
1-amino-1-carboxiciclobutano	
1-amino-1-carboxiciclopentano	
homocisteína tiolactona	L
homoserina lactona	L
Familia de la prolina	
<i>Compuesto</i>	<i>Isómero</i>
prolina	L
3,4-dehidroprolina	L
4-hidroxi-L-prolina	trans
4-fluoro-L-prolina	trans
4-fluoro-L-prolina	cis
γ-bencil-L-prolina	R
γ-(4-fluorobencil)-L-prolina	R
ácido 1,2,3,4-tetrahidro-3-isoquinolincarboxílico	S
ácido 2,3,4,9-tetrahidro-1H-beta-carbolin-3-carboxílico	DL
ácido 2,3-dihidro-1H-isoindol-1-carboxílico	DL
ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrol-5-carboxílico	
ácido azetidín-2-carboxílico	L
prolina-beta naftilamida	L
trans-4-ciclohexilprolina	L
trans-4-hidroxiproлина-naftilamida	L
ácido 4,6-dicloro-3-[(1E)-3-oxo-3-(fenilamino)-1-propenil]-1H-indol-2-carboxílico	
4-metoxi-7-nitro-1H-indolinil amida del ácido (2S,3S,4S)-carboxi-4-(1-metileténil)-3-pirrolidinacético	
ácido (E)-4,6-dicloro-3-(2-fenil-2-carboxietenil)indol-2-carboxílico	
γ-alil-L-prolina	R
ácido aziridin-2-carboxílico	L

ES 2 632 437 T3

γ-(4-nitrobencil)-L-prolina	R
trans-4-fenilprolina	L
γ-(3,4-difluorobencil)-L-prolina	R
γ-(3-tienilmetil)-L-prolina	R
γ-(4-metilbencil)-L-prolina	R
γ-(2-naftilenilmetil)-L-prolina	R
γ-propinil-L-prolina	R
γ-(3-fluorobencil)-L-prolina	R
γ-(2-fluorobencil)-L-prolina	R
γ-(4-bromobencil)-L-prolina	R
γ-(4-clorobencil)-L-prolina HCl	R
γ-(4-yodobencil)-L-prolina HCl	R
ácido 4H-tieno[3,2-b]pirrol-5-carboxílico	
γ-(2-triflurometilbencil)-L-prolina HCl	R
γ-(4-tercbutilbencil)-L-prolina HCl	R
3-fenilprolina	
γ-(2-cianobencil)-L-prolina HCl	R
γ-(2-metilbencil)-L-prolina HCl	R
γ-(3-triflurometil-bencil)-L-prolina HCl	R
γ-(3-fenil-alil)-L-prolina HCl (Boc?)	R
γ-(1-naftalenilmetil)-L-prolina HCl	R
ácido 4-(3-clorobencil)pirrolidin-2-carboxílico HCl	2S,4S
ácido 4-(3-clorobencil)pirrolidin-2-carboxílico HCl	2S,4R
4-bencil-L-prolina	S
γ-(2-furanilmetil)-L-prolina	S
γ-(3-clorobencil)-L-prolina HCl	R
γ-(2-piridinilmetil)-L-prolina 2HCl	S
ácido 4-(3-clorofenoxi)pirrolidin-2-carboxílico HCl	2S,4R
ácido 4-(3-clorofenoxi)pirrolidin-2-carboxílico HCl	2S,4S

γ -(2-yodobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(3-benzotienilmetil)-L-prolina HCl	R
γ -(2-bromobencil)-L-prolina HCl	
γ -(4-trifluorometilbencil)-L-prolina HCl	R
γ -(3-bromobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(4-piridinilmetil)-L-prolina HCl	R
γ -(4-cianobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(3-cianobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(3,4-diclorobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(2-clorobencil)-L-prolina HCl	R
γ -(2,4-diclorobencil)-L-prolina HCl	R
γ -propinil-L-prolina HCl	R
γ -(2-cianobencil)-L-prolina HCl	R
ácido 3-metil-2-pirrolidin-2-carboxílico	2S,3S
ácido 3-fenil-2-pirrolidin-2-carboxílico	2S,3R
ácido (E)-4,6-dicloro-3-(2-fenil-2-carboxietenil)indol-2-carboxílico	
ácido 4,6-dicloro-3-[(1E)-3-oxo-3-(fenilamino)-1-propenil]-1H-indol-2-carboxílico	
4-metoxi-7-nitro-1H-indolinil-amida del ácido carboxi-4-(1-metiletetil)-3-pirrolidinacético	(2S,3S,4S)

5 Los compuestos identificados en esta memoria en los ensayos de transporte de D-serina son inhibidores de los subtipos ASCT1 (SLC1A4) y ASCT2 (SLC1A5) de transportador, como se confirmó en ensayos de transporte utilizando células HEK que expresan heterológicamente ASCT1 o ASCT2 humanas. Esto incluye los compuestos L-gamma-glutamil-4-nitroanilida, L-4-hidroxifenilglicina, L-4-fluorofenilglicina, L-fenilglicina, trans-4-hidroxi-L-prolina y R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina. Estos compuestos tienen valores de Cl_{50} menores de 2 mM en uno o ambos ensayos de transporte en células HEK que expresan ASCT1 o ASCT2.

10 Los inhibidores de transporte de D-serina pueden tener además cualidades terapéuticas en los trastornos del sistema nervioso central donde incrementar la función del receptor NMDA es de utilidad, incluida la esquizofrenia y la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, la D-serina se ha estudiado en varias pruebas clínicas de pacientes esquizofrénicos y ha demostrado eficacia cuando se añade a fármacos antipsicóticos tradicionales (Labrie y Roder, 2010). En el hipocampo, LTP está un refuerzo que se cree que es un importante mecanismo en el aprendizaje y la memoria (Citri y Malenka, 2007). El inhibidor L-GPNA de transporte de la D-serina se descubrió que mejora LTP en el corte de hipocampo de rata (figura 8). Este efecto es probablemente debido a una facilitación de respuestas sinápticas mediadas por el receptor NMDA ya que, como se muestra al principio (figura 1), el inhibidor L-40HPG de transporte de D-serina podía mejorar las epsc mediadas por el receptor NMDA en el corte de hipocampo de rata. Estos datos indican que los inhibidores de transporte de D-serina serán beneficiosos en la mejora de las capacidades cognitivas, por ejemplo en pacientes de la enfermedad de Alzheimer.

20 Los inhibidores de transporte de D-serina se probaron en dos modelos de esquizofrenia bien probados. Los fármacos antipsicóticos usados clínicamente reducen la hiperlocomoción provocada por anfetamina y este ensayo se ha utilizado ampliamente para perfilar fármacos antipsicóticos. La administración generalizada de D-serina se ha

demostrado que reduce la hiperlocomoción provocada por anfetamina (Smith *et al*, 2009), un descubrimiento que se corresponde con la eficacia de la D-serina en pruebas clínicas de esquizofrenia (Labrie y Roder, 2010). Como se muestra en la figura 9, la administración generalizada de L-40HPG redujo la hiperactividad provocada por anfetamina en función de la dosis. L-4FPG fue un potente inhibidor en función de la dosis de hiperlocomoción provocada por anfetamina, con un efecto significativo a 0,3 mg/kg ip (figura 10). Un compuesto de la familia de la prolina (R-gamma-(2,4,diclorobencil)-L-prolina) fue también eficaz en este ensayo (figura 11). La inhibición prepulso (PPI) es un modelo bien probado empleado para perfilar compuestos para posible actividad antipsicótica (Swerdlow y Geyer, 1998). Se probaron D-serina y L-40HPG en un modelo de rata de PPI. L-40HPG redujo la PPI, un efecto que alcanzó significación al nivel de intensidad PP12, y D-serina presentó una tendencia similar que no alcanzó significación estadística (figura 12A). En un experimento de referencia, ni L-40HPG ni D-serina tuvieron ningún efecto significativo sobre la respuesta absoluta al sobresalto en todo el intervalo de intensidades de prepulso utilizadas (figura 12B).

Considerados en conjunto estos datos indican que los inhibidores de transporte de D-serina al SNC serán de utilidad en el tratamiento de trastornos tal como esquizofrenia y mejorarán el conocimiento en enfermedades tal como la enfermedad de Alzheimer.

Procedimientos generales seguidos en la obtención de datos experimentales

Registro electrofisiológico en cortes de hipocampo de rata (figuras 1A-1B):

Se prepararon cortes de hipocampo de 350 μm de espesor procedentes de ratas de 21 a 35 años empleando el microtomo Leica VT1000S. Los cortes se perfundieron con ACSF que contenía: NaCl 121 mM, KCl 2,5 mM, Mg_2SO_4 2,0 mM, CaCl_2 2,0 mM, NaH_2PO_4 1 mM, NaHCO_3 26,2 mM y glucosa 11 mM, que se equilibró con 5% CO_2 /95% O_2 . Se llevaron a cabo experimentos en una cámara de registros en la pletina de un microscopio Olympus BX-61wi con lentes DIC infrarrojas para visualizar registros de fijación de membranas de toda la célula. Se registraron EPSP de neuronas piramidales CA1 estimulando la vía colateral de comisuras de Schaffer utilizando un electrodo bipolar de tungsteno. Las pipetas de registro se llenaron con ICM regular que contenía: gluconato de Cs 120 mM, NaCl 5 mM, KCl 10 mM, CaCl_2 0,1 mM, EGTA 1 mM, MgCl_2 2 mM, HEPES 10 mM, Na-ATP 2 mM, 2 mM Na_2 -fosfocreatina y Na-GTP 0,25 mM, pH 7,3 (290 mOsm).

Para medir las EPSC mediadas por NMDA, el Mg_2SO_4 extracelular se redujo a 0,2 mM y se añadieron NBQX 2 μM y picrotoxina 100 μM en el ACSF. Se añadió 7-CKY (ácido 7-cloroquinurénico) 1 μM para mejorar la sensibilidad de EPSC_{NMDA} a D-serina.

30 Potenciación a largo plazo en corteza visual primaria (figura 2)

La potenciación a largo plazo (LTP) en la corteza visual primaria se ha utilizado como modelo celular para plasticidad de la corteza visual y tiene consecuencias funcionales sobre las respuestas visuales provocadas. Los receptores NMDA desempeñan una función crítica en la inducción de LTP de la corteza visual.

35 *Fisiología del corte de corteza visual:* Después de la decapitación de la rata, se extirpó el cerebro rápidamente y se sumergió en líquido cerebrospinal artificial (ACSF) enfriado en hielo que contenía NaCl 124 mM, KCl 3 mM, KH_2PO_4 1,25 mM, CaCl_2 3,4 mM, MgSO_4 2,5 mM, NaHCO_3 26 mM y D-glucosa 10 mM. Se creó un bloque de corteza visual extrayendo la porción 2/3 frontal del cerebro y el cerebelo. Se prepararon cortes de la corteza visual coronal de 375 μm de ratas adultas Sprague Dawley (SD) utilizando un vibrátomo (VT 1000 S; Leica). Los cortes se mantuvieron en una cámara con registro de interfase perfundida con ACSF precalentado. Los cortes se perfundieron continuamente con esta solución a un caudal de 1,00 -1,50 ml/min mientras la superficie de los cortes se exponía a 95% O_2 /5% CO_2 humidificado y caliente y se mantenía a $31 \pm 1^\circ\text{C}$. Los cortes de corteza visual se dejaron recuperar durante 1 h antes de comenzar a registrar. Se colocó un único electrodo de estimulación y registro en las capas IV y III, respectivamente, para generar y registrar posibles postsinápticos excitadores del campo (fEPSP). Se administraron pulsos cada 20 s utilizando una corriente que producía un fEPSP que era el 50% de la respuesta sin punta máxima. Se construyó una curva de entradas-salidas (IO) para determinar la estimulación necesaria para conseguir unos valores de referencia estables. Después de un periodo de 15 min de registro de valores de referencia estables, una serie de 5 ráfagas theta (conteniendo cada ráfaga cuatro pulsos a 100 Hz con un intervalo entre pulsos de 200 ms) se suministraron al corte. Esto se repitió 2 veces más con un intervalo de 1 minuto entre series, y se registró el nivel de LTP durante al menos 30 min. Los cambios en la amplitud de la respuesta sináptica se utilizaron para medir el alcance de LTP porque se determinó que era un parámetro más consistente que la pendiente de la respuesta. Los valores de LTP de referencia se obtuvieron a partir de cortes no tratados con fármaco. Se utilizaron diferentes cortes para estudiar efectos del fármaco en LTP. Después de un periodo de 15 min de registro de valores de referencia, los compuestos de interés se infundieron durante 15 minutos seguido de inducción por LTP. El periodo de reposo farmacológico de los compuestos comenzó 5 minutos después de la tetanización. Se realizó el registro de la amplitud antes, durante y después de la infusión del fármaco.

*Ensayo con DAAO (figuras 2B):

Para los experimentos con DAAO, se infundieron 0,2 unidad/ml de DAAO con o sin los compuestos de interés durante 15 minutos antes de inducción por LTP.

Experimentos de transporte (tablas 1 y 2; figuras 4-6)

5 Ensayos con células: se midió el transporte de [³H]L- o D-serina en cultivos primarios de astrocitos de hipocampo de rata o en células renales embrionarias humanas (HEK) que expresan subtipos de transportador ASCT. Para los ensayos con astrocitos, se colocaron células en placas de 24 o 96 pocillos a una densidad de 50.000 células por pocillo. Para los ensayos con HEK, se colocaron células en placas de 96 pocillos recubiertas a una densidad de 80.000 células/pocillo. Se realizaron ensayos por duplicado a temperatura ambiente en tampón de ensayo consistente en: NaCl: 150 mM, KCl: 2 mM; MgCl₂: 1 mM; CaCl₂: 1 mM; HEPES: tampón Tris: 10 mM, pH 7,4. Para evaluar la dependencia de sodio del transporte, se sustituyó el NaCl en el tampón de ensayo por cloruro de colina equimolar. Después de la aspiración de medio de cultivo y 2 lavados con tampón de ensayo, se incubaron células con [³H]L- o D-serina a una concentración final de 1 µM durante 5 min (astrocitos) o 1 min (células HEK), tras lo cual se aspiró el medio de incubación y las células se lavaron dos veces con tampón de ensayo enfriado con hielo. Las células que contenían radiomarcador se disolvieron en 100 µl de Triton-X100 al 1% y una alícuota contada en un contador beta. Los valores de CI₅₀ se determinaron en un intervalo de al menos 6 concentraciones y procedían de algoritmos de ajustes de la curva disponible en GraphPad Prism 4.

15 Ensayos con sinaptosomas: se preparó y se analizó inmediatamente una fracción de P2 de prosencéfalo de rata. Alícuotas del preparado de P2 (aprox. 1 mg de peso de tejido original se incubaron en tampón de ensayo exento de sodio (ColinaCl: 128 mM, KCl: 3,5 mM; KH₂PO₄: 1,5 mM; MgCl₂: 1 mM; CaCl₂: 1 mM; glucosa: 10 mM; tampón Tris-acetato: 10 mM, pH 7,4) que contenía [³H]D-serina (concentración final de 50 nM) y compuestos de ensayo por duplicado durante 4 min a temperatura ambiente. Los sinaptosomas que contenían radiomarcador se recogieron por filtración sobre filtros Whatman GF/C, y se lavaron dos veces con tampón de ensayo enfriado con hielo. Los filtros se disolvieron en líquido de centelleo y se determinó la radiactividad en un contador beta. Los valores de CI₅₀ se determinaron como se ha descrito anteriormente para los ensayos con células.

Hiperactividad provocada por anfetamina (figuras 9, 10, 11)

25 Se colocaron ratones macho C57B/6 (n=5-10/grupo) en un aparato de campo abierto y se midió su actividad durante 30 minutos. A los 30 minutos, recibieron una inyección de vehículo o una inyección de compuesto de ensayo seguida de una inyección de anfetamina (2 mg/kg, s.c.) en el minuto 45. Sus niveles de actividad se midieron posteriormente durante otra de inyección posterior de 1 hora. La actividad total durante cada 5 minutos dos veces en la noche (21 dos veces en la noche en total) se añadió para crear la curva de actividad durante las pruebas de 105 minutos.

30 Inhibición prepulso (figuras 12 A y B)

Se midió la inhibición prepulso utilizando el sistema de respuesta al sobresalto SR-Lab ajustado con un cerramiento para ratas. Durante el periodo de aclimatación, se acostumbró a cada rata (n=8/grupo) a un intervalo de 5 min de ruido de fondo de 65 dB seguido de seis pulsos separados de sobresalto de 120 dB, cada 40 m de longitud. Esta fase de aclimatación fue seguida de una sesión de prueba PPI de 15 min en la que las ratas se presentaron con pulsos de sobresalto de 120 dB sin un prepulso ("pulso único") o pulsos precedidos por un prepulso de 20 ms de 3, 6 o 12 dB por encima del ruido de fondo ("PP3", "PP6" o "PP12", respectivamente) y acabados con cinco pulsos de sobresalto de 120 dB. La PPI se registró para intensidades de prepulso de 3, 6 y 12 dB, y sin estímulo. Cada prueba de prepulso se administró en orden pseudoaleatorio. Las pruebas de pulso único a 120 dB se intercalaron al azar en las pruebas de prepulso y se utilizaron para comparación con las pruebas de prepulso. Los datos de PPI se calcularon como porcentaje de PPI comparando el pulso único frente a las pruebas de PP empleando la fórmula [100 - (respuesta al prepulso + 120 dB) / (respuesta a 120 dB solo) x 100]. El experimentador fue camuflado al tratamiento durante las pruebas y análisis.

Los datos se analizaron con un ANOVA de 2 vías con enfermedad y tratamiento como factores con comparaciones post hoc de Bonferroni.

45

50

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica aceptable que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos inhibidores del transportador de D-serina para su utilización en una método para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central causados por una deficiencia en la función del receptor N-metil-D-aspartato donde dicho uno o más compuestos inhibidores del transportador D-serina se selecciona de L-gamma-glutamil-4-nitroanilida, L-4-fluorofenilglicina, trans-4-hidroxi-L-prolina y R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina y en donde el trastorno del sistema nervioso es la esquizofrenia, el trastorno esquizofreniforme y el trastorno esquizoafectivo y condiciones específicamente seleccionadas entre las siguientes: trastorno del comportamiento, tipo solitario agresivo, trastorno del comportamiento, tipo indiferenciado, trastorno de la Tourette, trastorno motor crónico o de tic vocal, trastorno de tic transitorio, trastorno de tic, abstinencia alcohólica, delirio, alucinosis alcohólica, demencia alcohólica por alcoholismo, intoxicación simpaticomimética por anfetamina o de actuación similar, delirio simpaticomimético por anfetamina o de actuación similar, trastorno delirante simpaticomimético por anfetamina o de actuación similar, trastorno delirante por marihuana, intoxicación con cocaína, delirio por cocaína, trastorno delirante por cocaína, alucinosis por alucinógenos, trastorno delirante por alucinógenos, trastorno del estado de ánimo por alucinógenos, trastorno perceptivo pos-alucinógenos, intoxicación con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, delirio por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno delirante por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno del estado de ánimo por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno orgánico mental por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, intoxicación con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, demencia por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno delirante por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, alucinosis por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno del estado de ánimo por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de ansiedad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de la personalidad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno orgánico mental por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio, demencia, trastorno orgánico delirante, alucinosis orgánica, trastorno orgánico del estado de ánimo, trastorno orgánico de ansiedad, trastorno orgánico de la personalidad, trastorno orgánico mental, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de ansiedad generalizado, trastorno de ansiedad, trastorno dismórfico corporal, hipocondriasis (o neurosis hipocondríaca), trastorno de somatización, trastorno somatomorfo indiferenciado, trastorno somatomorfo, trastorno explosivo intermitente, cleptomanía, ludopatía, piromanía, tricotilomanía, y trastorno del control de impulsos, esquizofrenia catatónica, subcrónica, esquizofrenia catatónica, crónica, esquizofrenia catatónica, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, crónica, con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, en remisión, esquizofrenia catatónica, no especificada, esquizofrenia desorganizada, subcrónica, esquizofrenia desorganizada, crónica, esquizofrenia desorganizada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, en remisión, esquizofrenia desorganizada, no especificada, esquizofrenia paranoide subcrónica, esquizofrenia paranoide crónica, esquizofrenia paranoide, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia paranoide, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia paranoide, en remisión, esquizofrenia paranoide, no especificada, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica, esquizofrenia indiferenciada, crónica, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, en remisión, esquizofrenia indiferenciada, no especificada, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, en remisión, esquizofrenia residual, no especificada, trastorno delirante (paranoide), trastorno con forma de esquizofrenia de psicosis reactiva breve, trastorno psicótico provocado, trastorno psicótico (psicosis atípica), trastornos de personalidad, trastornos paranoides, de personalidad, trastornos esquizoides de personalidad, trastornos de la personalidad, de tipo esquizoide, trastornos de la personalidad, trastornos antisociales y de personalidad, intermedios.
2. Una composición para su uso según la reivindicación 1, que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de L-gamma-glutamil-4-nitroanilida.
3. Una composición para su uso según la reivindicación 1, que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de L-4-fluorofenilglicina.
4. Una composición para su uso según la reivindicación 1, que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de trans-4-hidroxi-L-prolina.
5. Una composición para su uso según la reivindicación 1, que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina.
6. Una composición farmacéutica que comprende como principio activo una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un compuesto inhibidor del transportador de D-serina y un adyuvante, diluyentes o vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que dicho uno o más compuesto(s) inhibidor(es) del transportador de D-serina se selecciona(n) de, L-4-fluorofenilglicina y R-gamma-2,4-diclorobencil-L-prolina.

7. Una composición farmacéutica aceptable que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto inhibidor ASCT1 y al menos un compuesto inhibidor ASCT2 para utilización en un método para el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central causados por una deficiencia en la función del receptor de N-metil -D-aspartato, en la que dicho compuesto inhibidor ASCT1 es L-t-4-OH-prolina y dicho compuesto inhibidor ASCT2 es L-glutamina y en donde el trastorno del sistema nervioso es la esquizofrenia, el trastorno esquizofreniforme y el trastorno esquizoafectivo y afecciones específicamente seleccionadas de las siguientes: trastorno del comportamiento, tipo solitario agresivo, trastorno del comportamiento, tipo indiferenciado, trastorno de la Tourette, trastorno motor crónico o de tic vocal, trastorno de tic transitorio, trastorno de tic, abstinencia alcohólica, delirio, alucinosis alcohólica, demencia alcohólica por alcoholismo, intoxicación simpaticomimética por amfetamina o de actuación similar, delirio simpaticomimético por amfetamina o de actuación similar, trastorno delirante simpaticomimético por amfetamina o de actuación similar, trastorno delirante por marihuana, intoxicación con cocaína, delirio por cocaína, trastorno delirante por cocaína, alucinosis por alucinógenos, trastorno delirante por alucinógenos, trastorno del estado de ánimo por alucinógenos, trastorno perceptivo pos-alucinógenos, intoxicación con fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, delirio por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno delirante por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, trastorno orgánico mental por fenciclidina o arilciclohexilamina de actuación similar, intoxicación con otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, demencia por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno delirante por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, alucinosis por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno del estado de ánimo por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de ansiedad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno de la personalidad por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, trastorno orgánico mental por otras sustancias psicoactivas o no especificadas, delirio, demencia, trastorno orgánico delirante, alucinosis orgánica, trastorno orgánico del estado de ánimo, trastorno orgánico de ansiedad, trastorno orgánico de la personalidad, trastorno orgánico mental, trastorno obsesivo compulsivo, trastorno de estrés postraumático, trastorno de ansiedad generalizado, trastorno de ansiedad, trastorno dismórfico corporal, hipocondriasis (o neurosis hipocondríaca), trastorno de somatización, trastorno somatomorfo indiferenciado, trastorno somatomorfo, trastorno explosivo intermitente, cleptomanía, ludopatía, piromanía, tricotilomanía, y trastorno del control de impulsos, esquizofrenia catatónica, subcrónica, esquizofrenia catatónica, crónica, esquizofrenia catatónica, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, crónica, con empeoramiento agudo, esquizofrenia catatónica, en remisión, esquizofrenia catatónica, no especificada, esquizofrenia desorganizada, subcrónica, esquizofrenia desorganizada, crónica, esquizofrenia desorganizada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia desorganizada, en remisión, esquizofrenia desorganizada, no especificada, esquizofrenia paranoide subcrónica, esquizofrenia paranoide crónica, esquizofrenia paranoide, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia paranoide, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia paranoide, en remisión, esquizofrenia paranoide, no especificada, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica, esquizofrenia indiferenciada, crónica, esquizofrenia indiferenciada, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia indiferenciada, en remisión, esquizofrenia indiferenciada, no especificada, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, en remisión, esquizofrenia residual, subcrónica, esquizofrenia residual, crónica, esquizofrenia residual, subcrónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, crónica con empeoramiento agudo, esquizofrenia residual, en remisión, esquizofrenia residual, no especificada, trastorno delirante (paranoide), trastorno con forma de esquizofrenia de psicosis reactiva breve, trastorno psicótico provocado, trastorno psicótico (psicosis atípica), trastornos de la personalidad, trastornos paranoides, de personalidad, trastornos esquizoides de personalidad, trastornos de la personalidad de tipo esquizoide, trastornos antisociales y de personalidad, intermedios.

Tabla 1: Inhibición del transporte de D-serina en sinaptosomas de cerebro de rata y astrocitos de hipocampo de rata en cultivo por análogos de aminoácidos.

Compuesto	CI ₅₀ en astrocitos (µM)	CI ₅₀ en sinaptosomas (µM)
L-serina	57,9	9,6
D-serina	1.581	9,4
L-glutamina	1.641	943
L-asparagina	57,2	668
L-GPNA	3.096	453
Éster L-glutamato-γ-bencílico	3.000	62
L-4-fluorofenilglicina	27,9	258
L-4-hidroxifenilglicina	142,1	101
DL-2-fluorofenilglicina	1.571	348
L-fenilglicina	89,4	217
L-prolina	2.271	> 10.000
L-trans-4-hidroxi-prolina	38,9	> 10.000
S-bencil-L-cisteína	424	86
S-fenil-L-cisteína	597	29,3

L-GPNA: L-γ-nitrofenil-glutamil-anilida.

Figura 1A: Registro electrofisiológico de cortes de hipocampo de rata: L-4OHPG (L-4-hidroxifenilglicina, 1.000 μ M) potencia corrientes postsinápticas excitadoras (EPSC) mediadas por el receptor NMDA

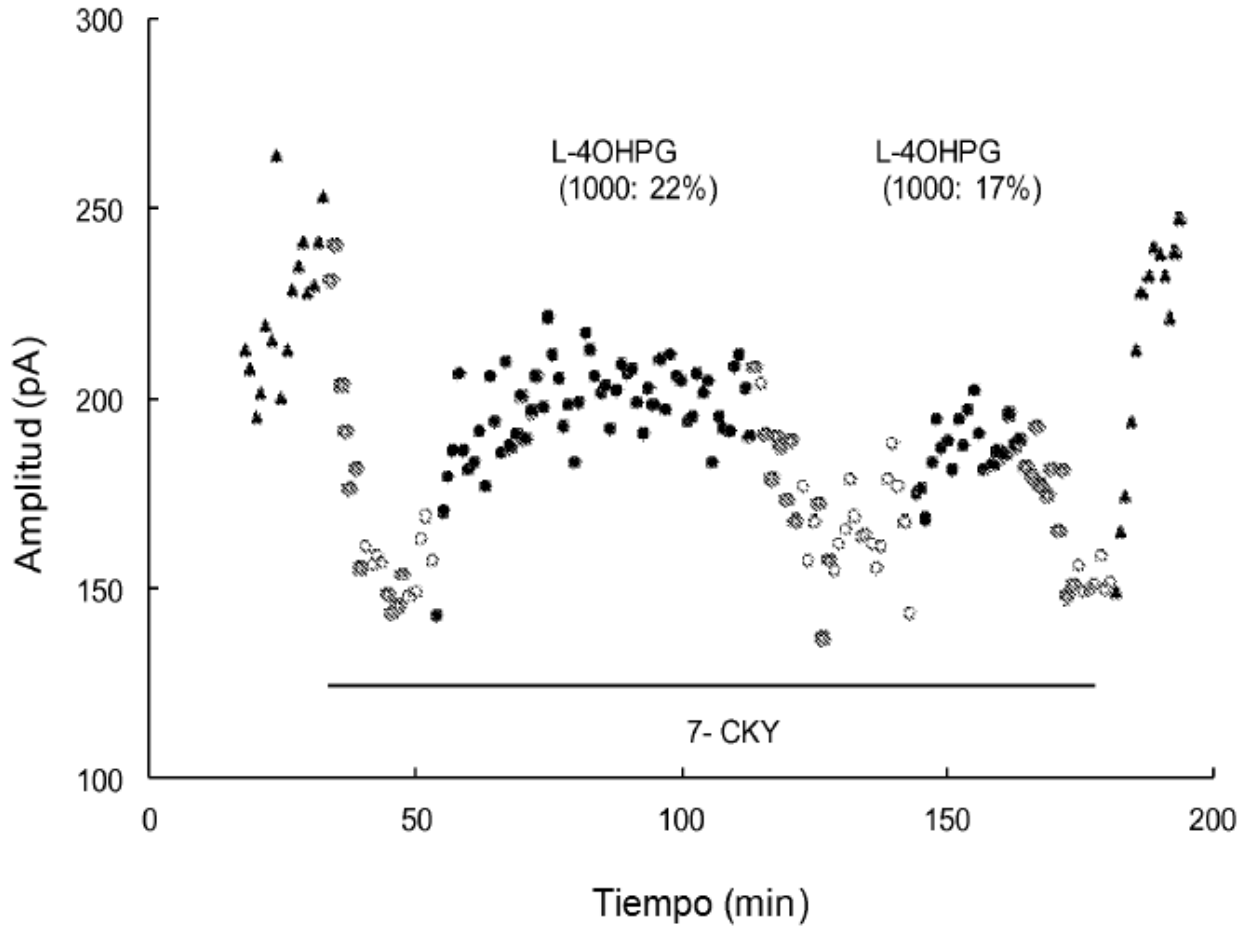


Figura 1B: Respuesta a la dosis para la potenciación por L-4OHPG de corrientes postsinápticas excitadoras (EPSC) mediadas por el receptor NMDA

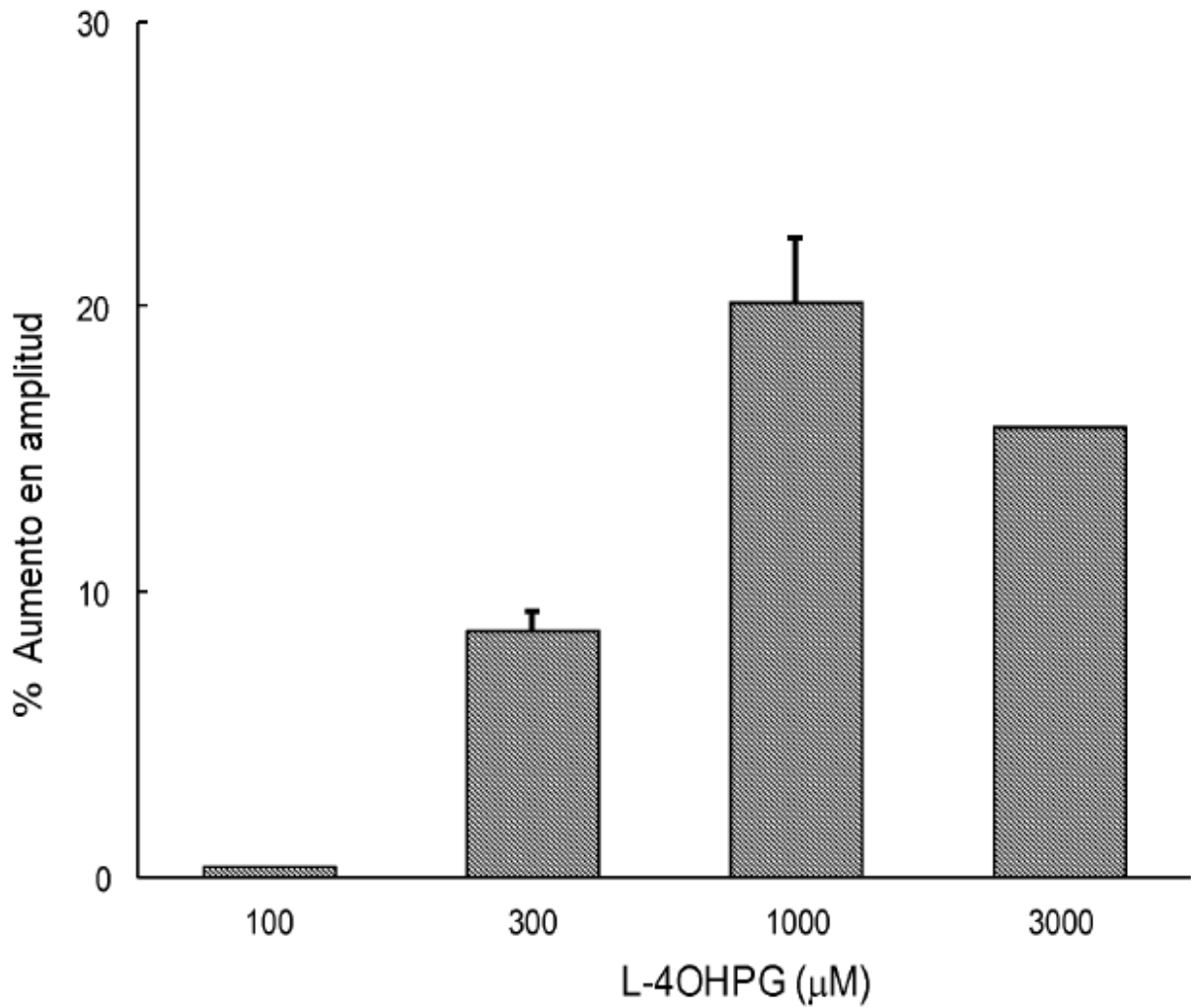


Figura 2A: L-4OHPG facilita la LTP en la capa III de la corteza visual principal

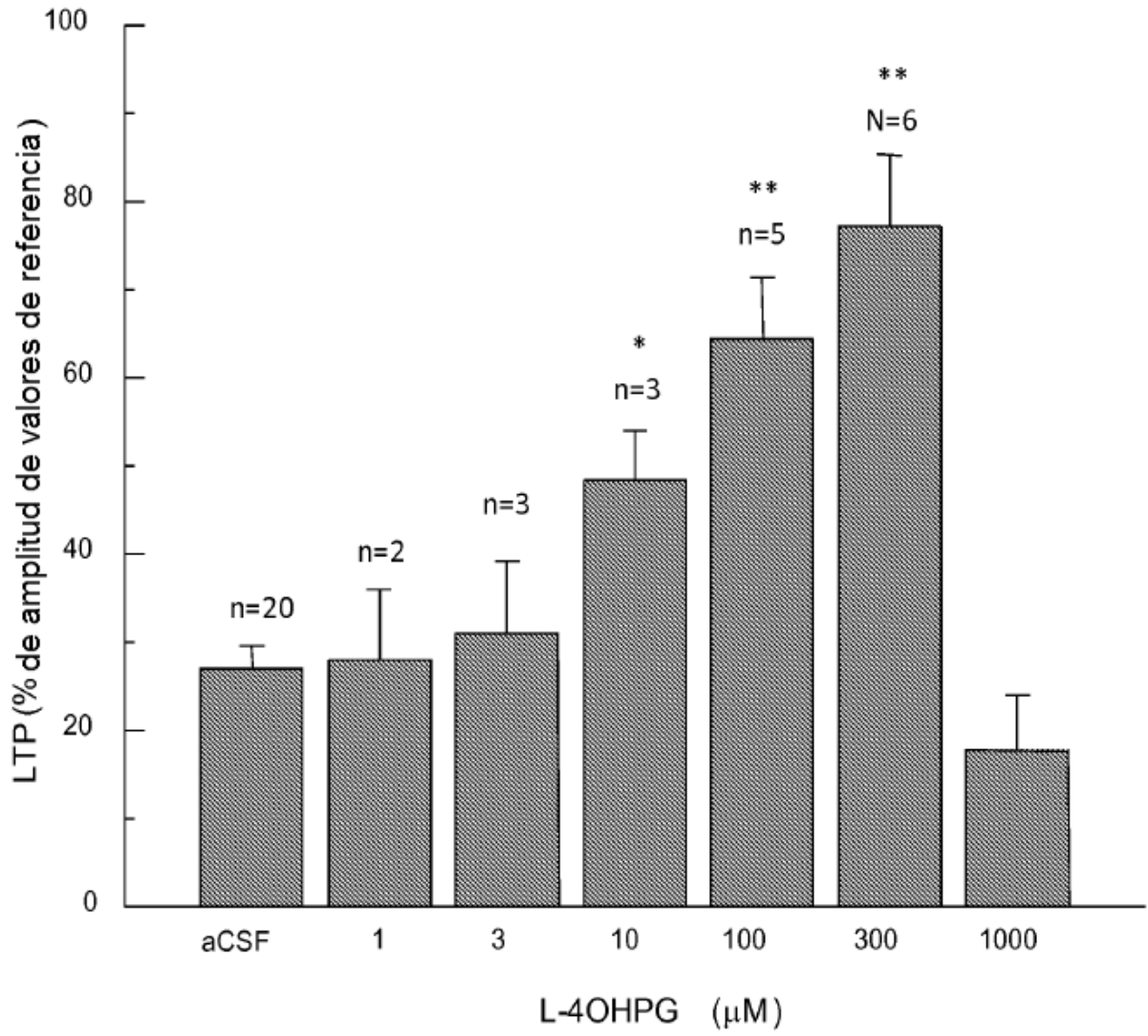


Figura 2B: D-aminoácido oxidasa (D-AAO) bloquea el efecto de facilitación por LTP de L-4OHPG 100 μ M

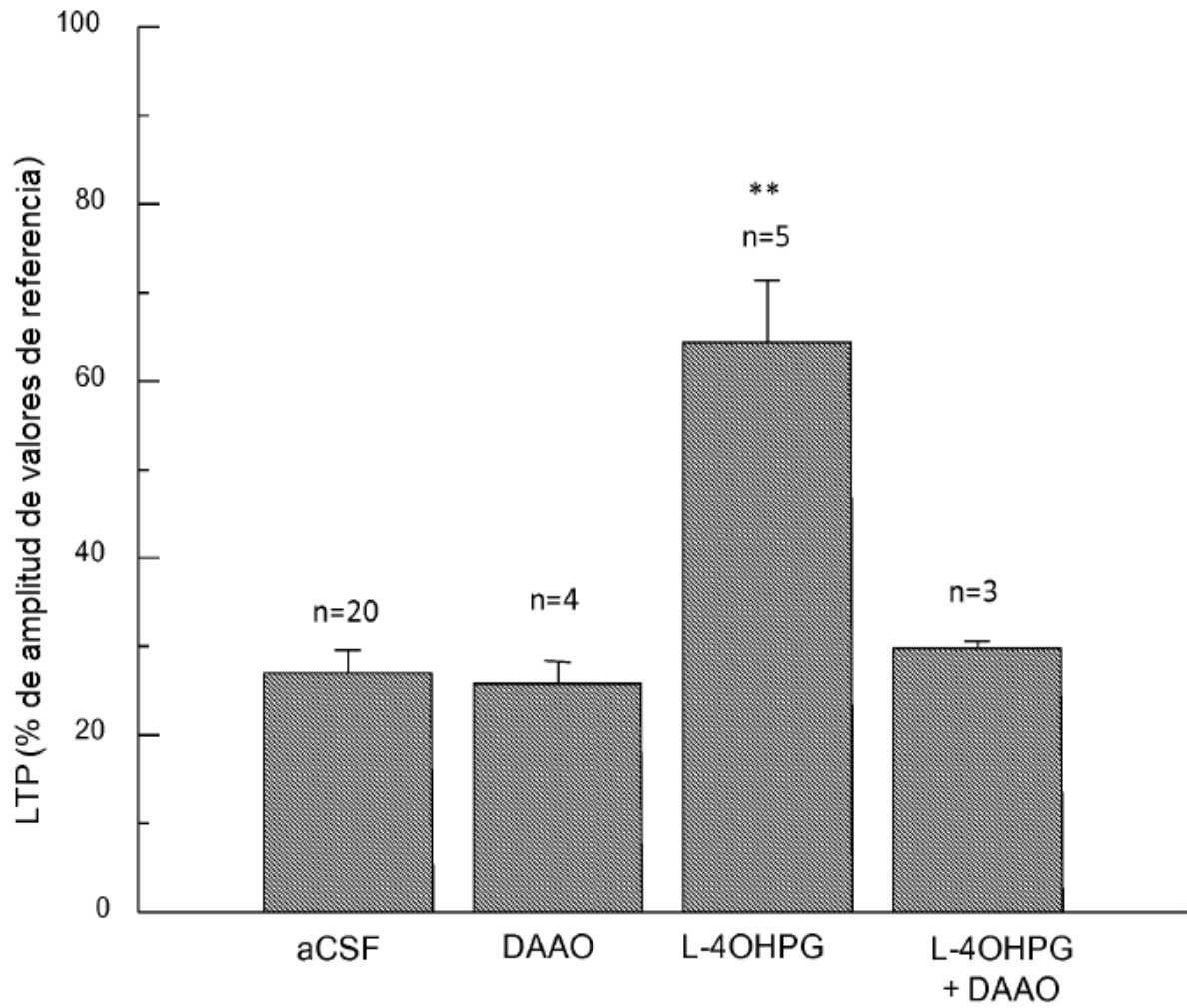


Figura 3A: Correlación entre la inhibición del transporte de D-serina neuronal y el aumento de LTP en el corte de corteza visual de rata

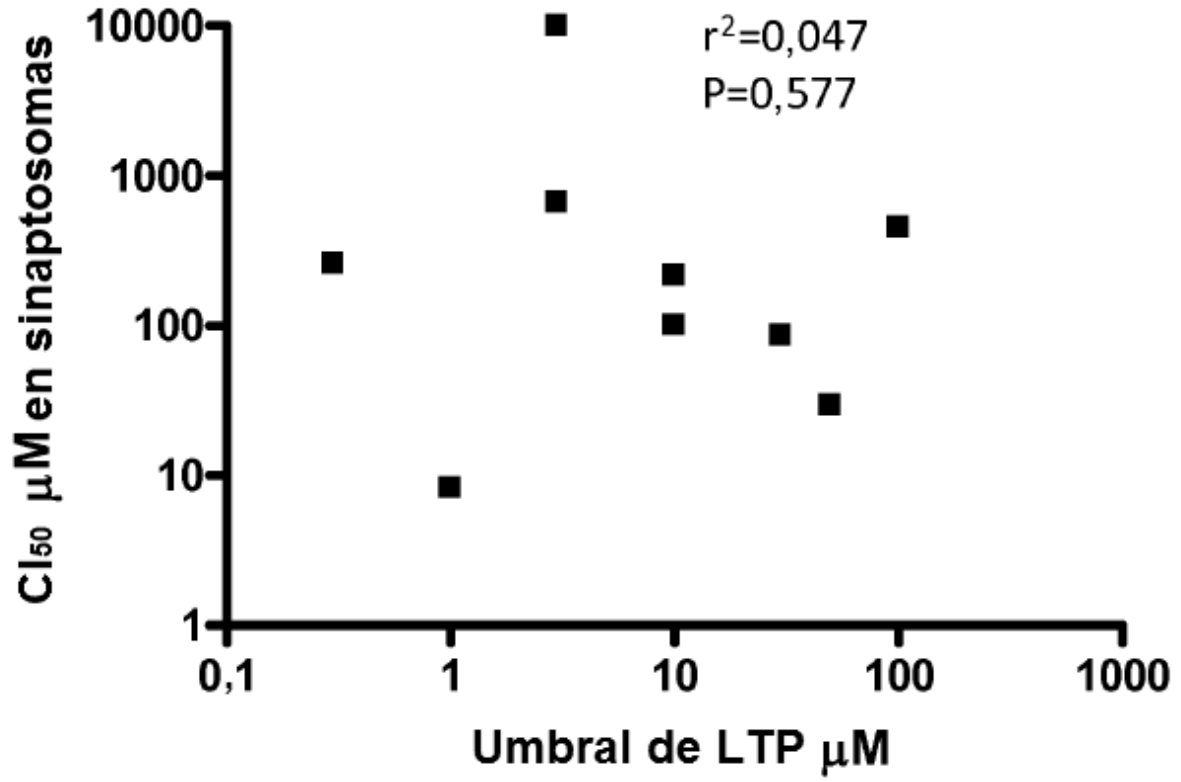


Figura 3B: Correlación entre la inhibición del transporte de D-serina de astrocitos y el aumento de LTP en el corte de corteza visual de rata

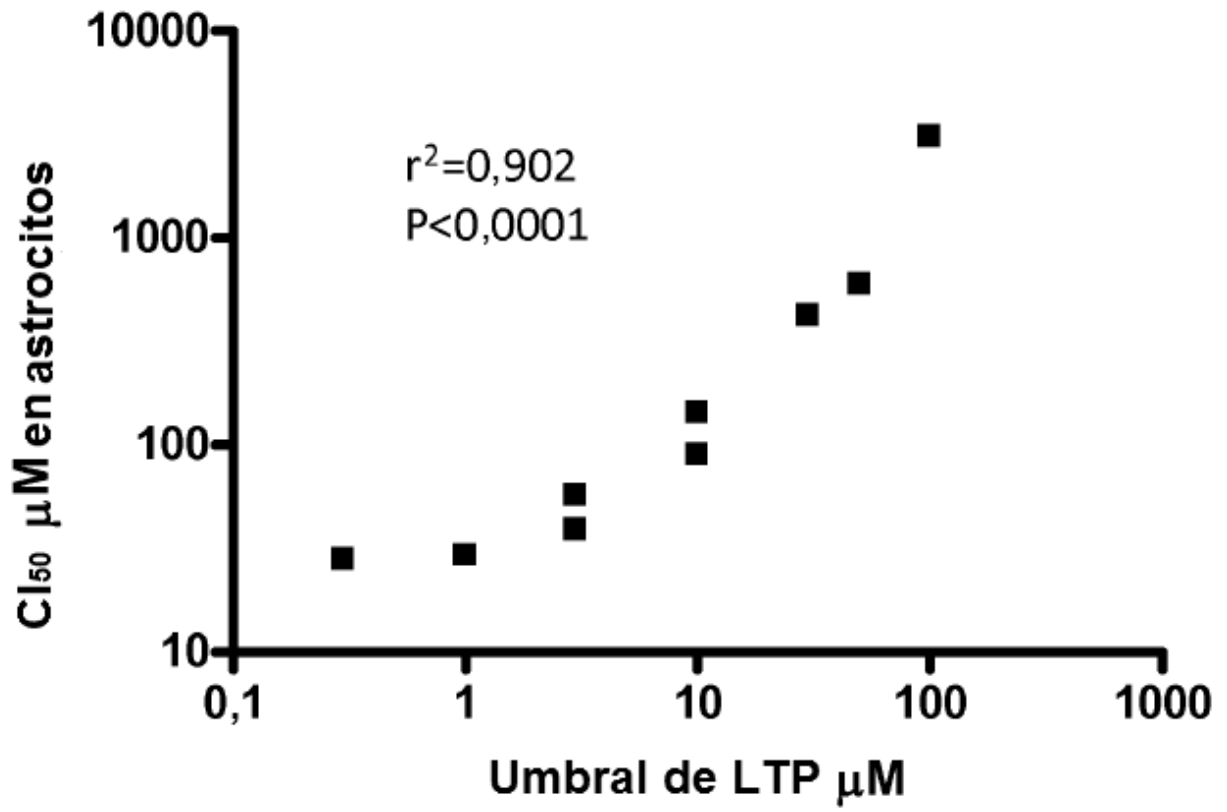
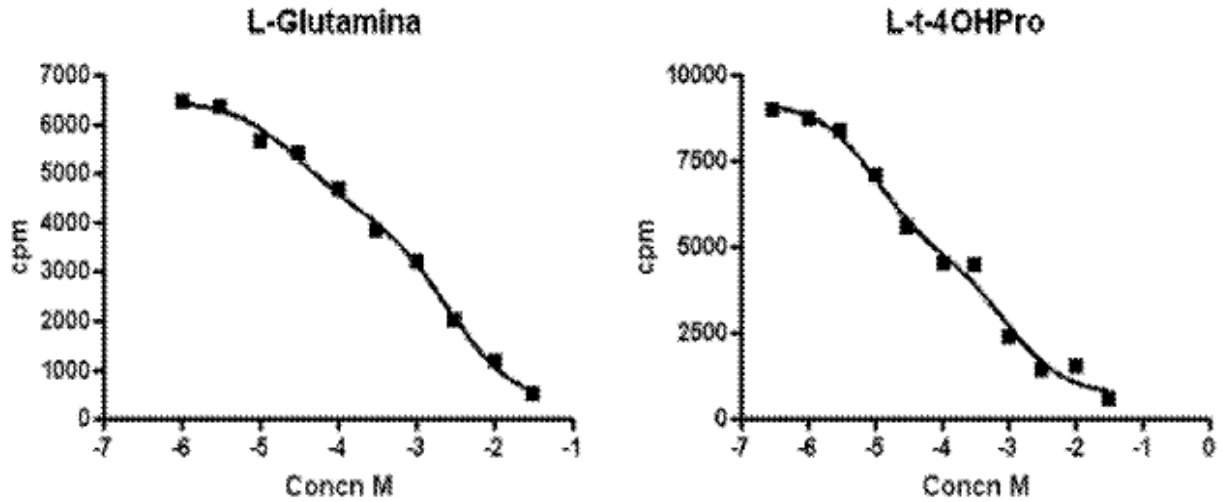
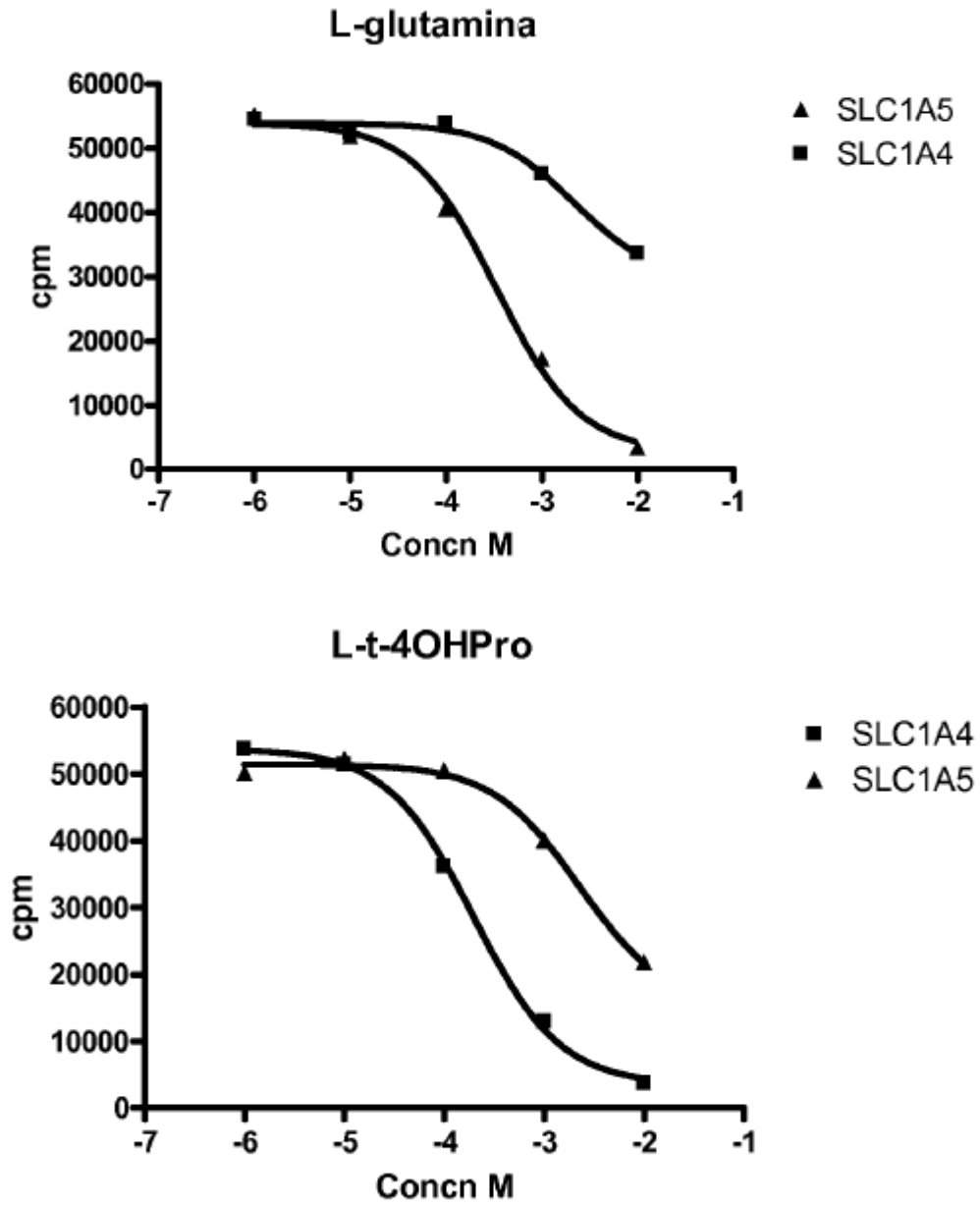


Figura 4: Inhibición del componente 2 de transporte de [³H]D-serina en astrocitos por L-glutamina y L-t-4OHPro y valores de CI₅₀ para cada uno de los componentes



Compuesto	CI ₅₀ μM del componente 1	CI ₅₀ μM del componente 2	Fracción del componente 1 (%)
L-glutamina	26,9	2.737	36,7
L-t-4OHPro	17,2	2.989	61,1

Figura 5: inhibición del transporte de [³H]L-serina en células HEK progenitoras y células HEK que expresan ASCT1 y ASCT2 mediante L-glutamina y L-t-4OHPro. SLC1A4 es el nombre del gen para ASCT1 y SLC1A5 es el nombre del gen para ASCT2.



CI ₅₀ μM	ASCT1 (SLC1A4)	ASCT2 (SLC1A5)
L-glutamina	3.373	541
L-t-4OHPro	188	3.475

Figura 6A: Transporte de [³H]D-serina en células HEK que expresan ASCT1 (SLC1A4) y ASCT2 (SLC1A5). El transporte de D-serina en función del sodio era similar en ambas estirpes celulares.

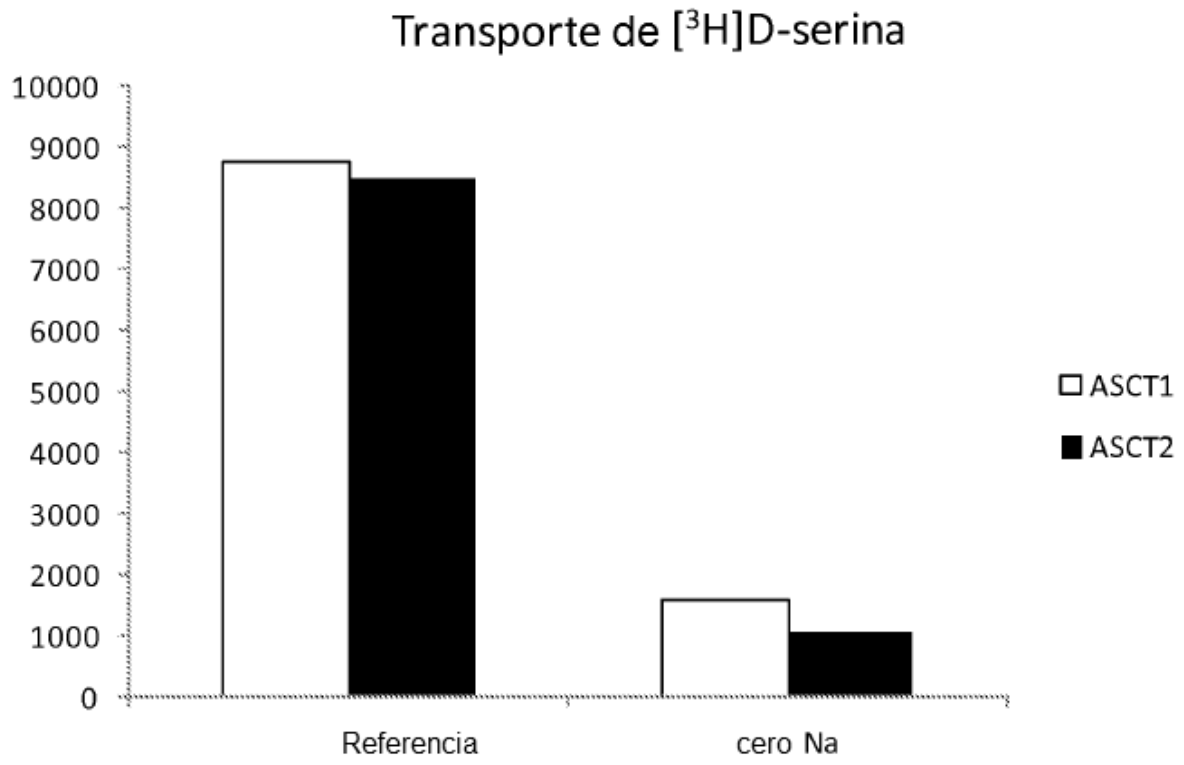
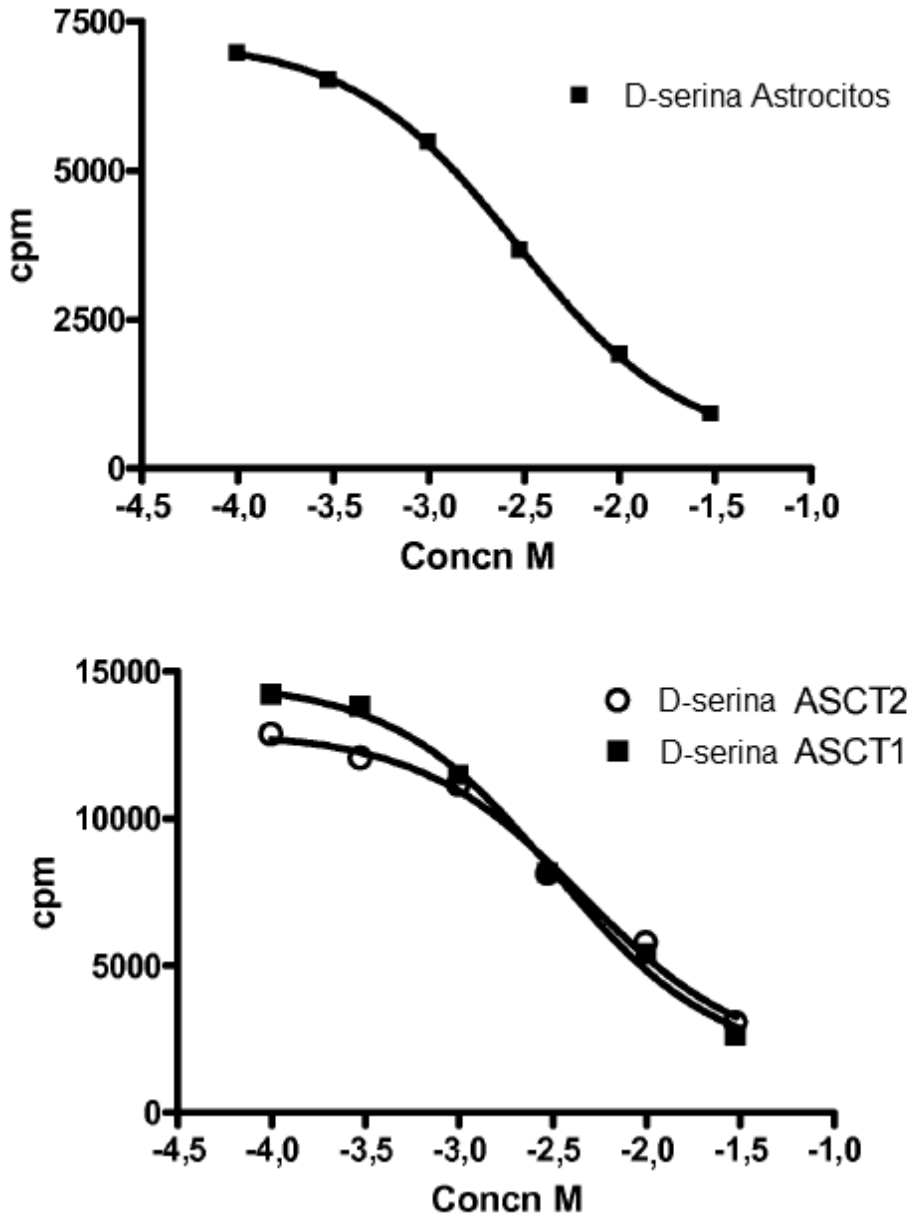


Figura 6B: Inhibición de transporte en astrocitos y estirpes celulares HEK por D-serina



CI ₅₀ μM de D-serina		
<i>Astrocitos</i>	<i>ASCT1 (SLC1A4)</i>	<i>ASCT2 (SLC1A5)</i>
2.592	3.937	4.913

Tabla 2: Comparación de valores de CI_{50} para la inhibición del transporte en astrocitos y células HEK que expresan ASCT1 o ASCT2 en comparación con las concentraciones umbral requeridas para aumentar LTP en el corte de corteza visual de rata.

Compuesto	CI_{50} astrocitos (μM)	CI_{50} ASCT1 (μM)	CI_{50} ASCT2 (μM)	Umbral de LTP (μM)
L-serina	94	292	822	N.A.
D-serina	2.592	3.937	4.913	3
L-glutamina	41* 4.713*	3.373	541	N.A.
L-asparagina	108	656	674	3
L-GPNA	57* 4.135*	>10.000	1.133	100
L-4-fluorofenilglicina	83,3	377	437	0,3
L-4-hidroxifenilglicina	283	1.322	1.728	10
DL-2-fluorofenilglicina	1.572	>3.000	>3.000	>300
L-fenilglicina	228	1.217	945	10
L-prolina	1.780	2.139	>10.000	N.A.
L-trans-4-hidroxi-prolina	16* 3.047*	188	3.475	3
L-ciclopropilglicina	180	948	428	1

* valores para componentes con alta y baja afinidad

N.A. = no aplicable

Figura 7: Correlaciones entre la capacidad de los compuestos para inhibir el transporte en células HEK que expresan ASCT1 y ASCT2 i la concentración umbral para el aumento de LTP en la corteza visual

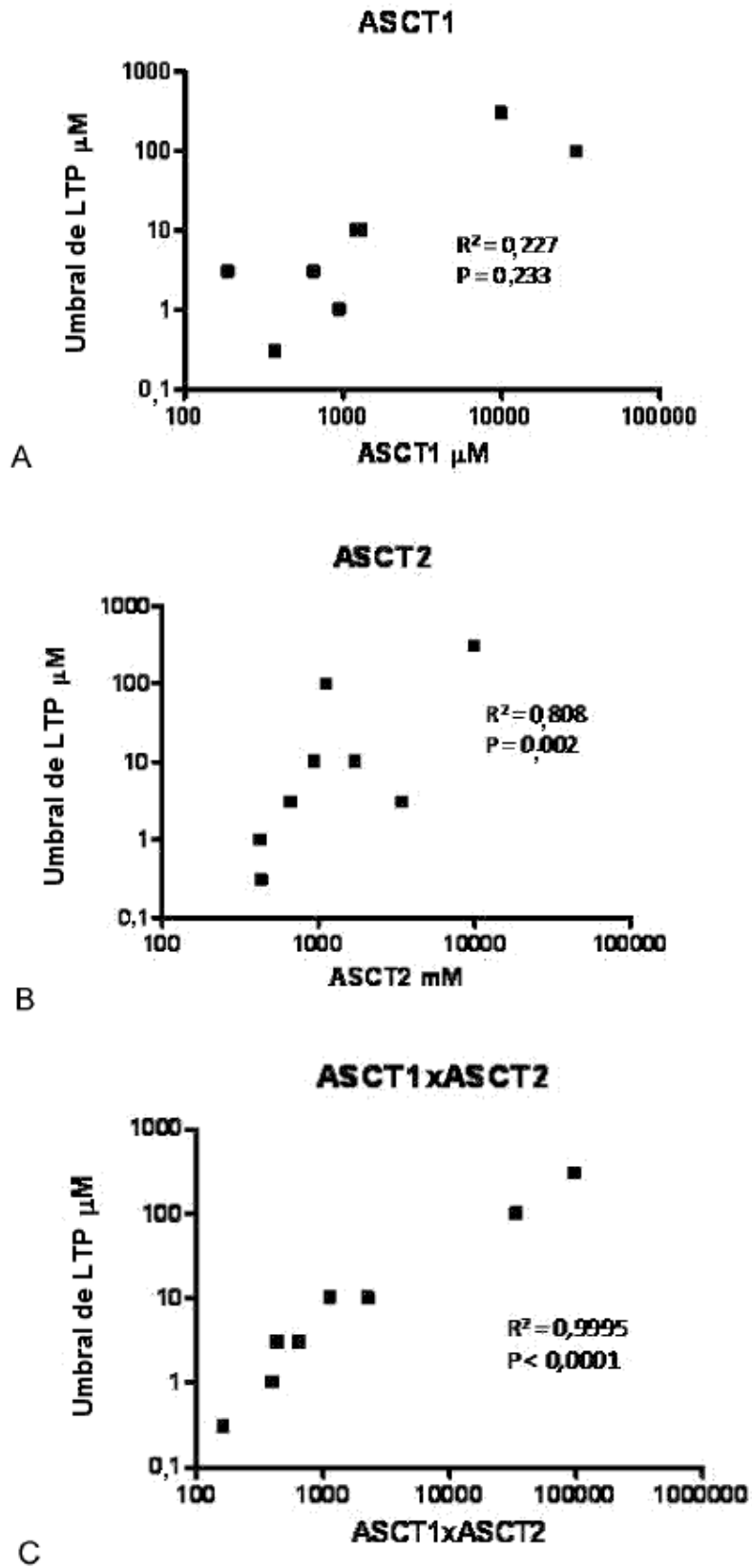


Figura 8: L-GPNA 100 μ M facilita LTP en cortes de hipocampo

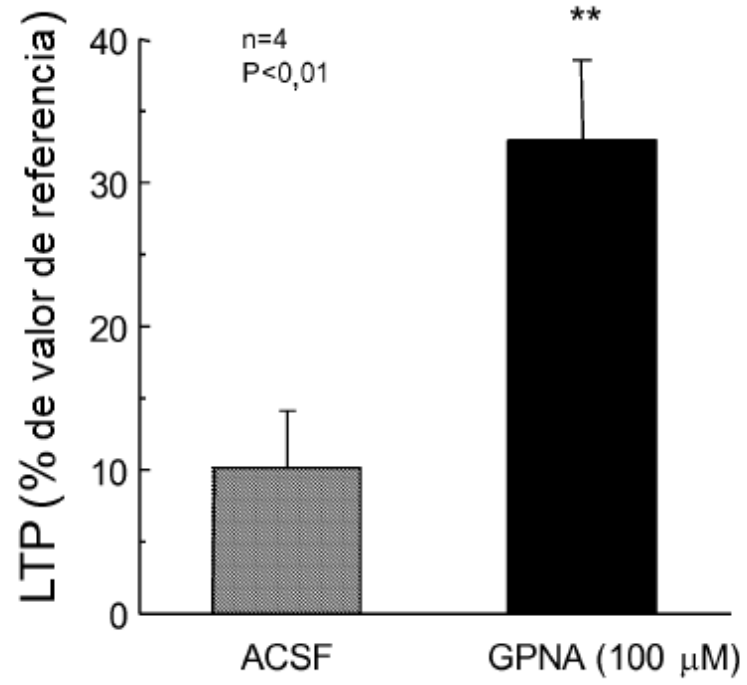
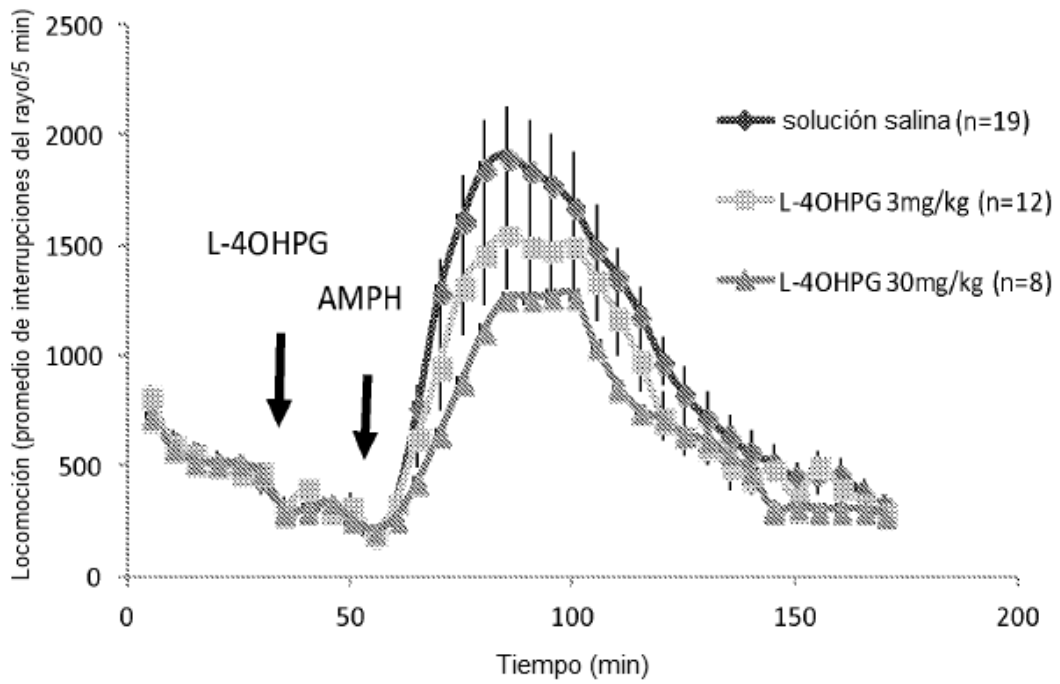


Figura 9: Efectos de L-4OHPG sobre la hiperactividad provocada por anfetamina en ratones

A



B

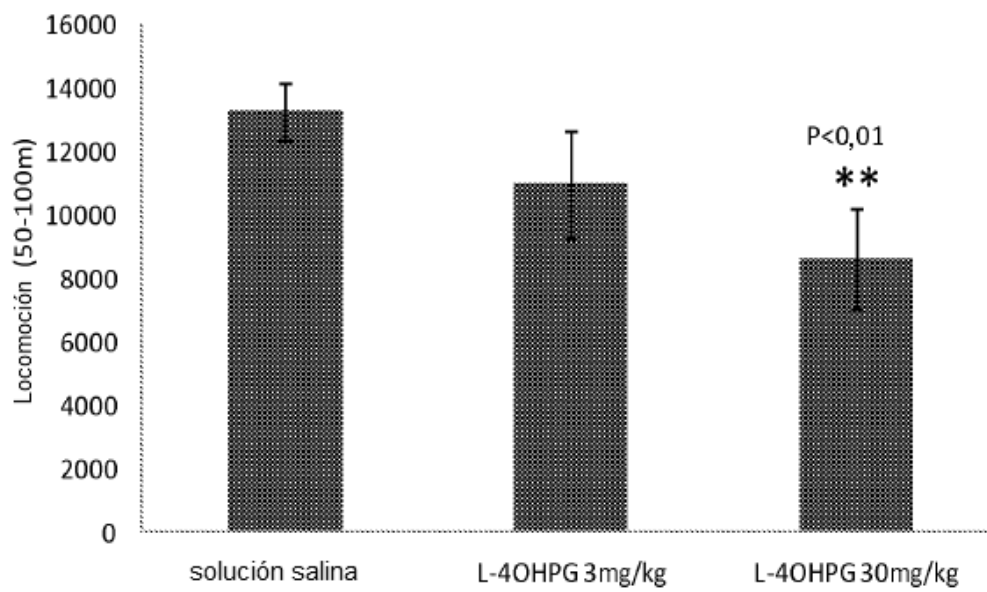
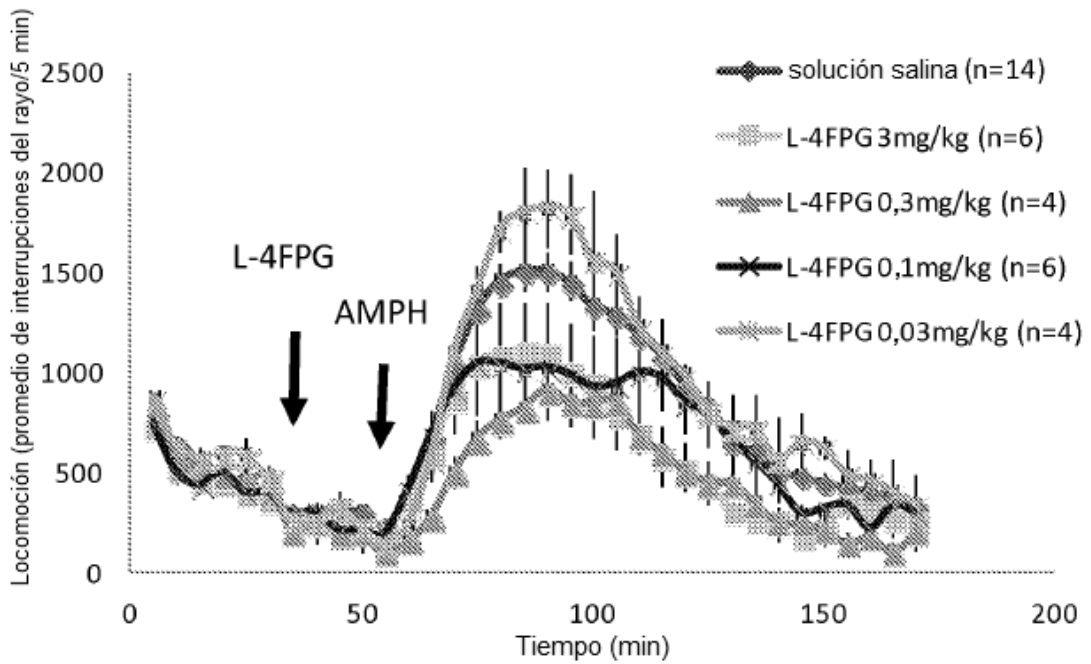


Figura 10: Efectos de L-4FPG sobre la hiperactividad provocada por anfetamina en ratones

A



B

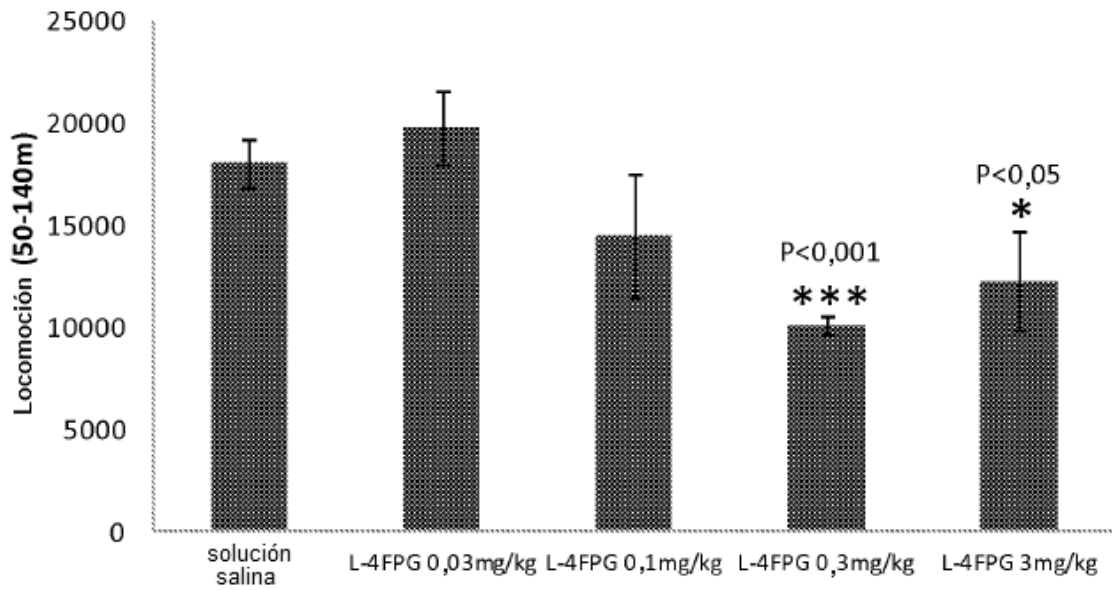
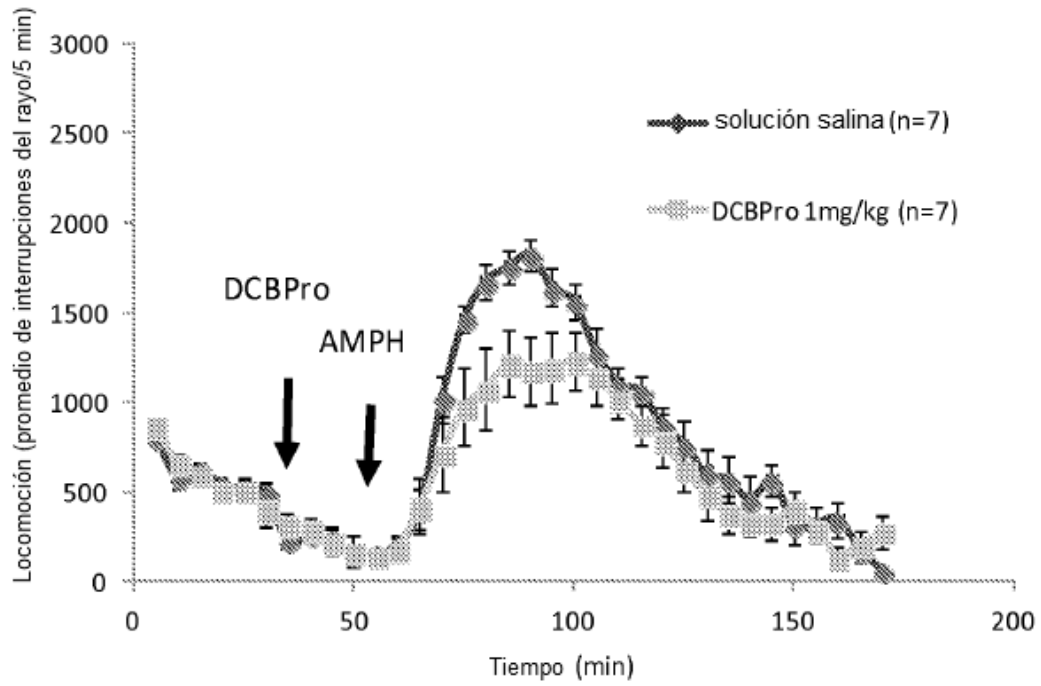


Figura 11: Efectos de R-gamma (2,4-diclorobencil)-L-prolina (DCBPro) sobre la hiperactividad provocada por anfetamina en ratones

A



B

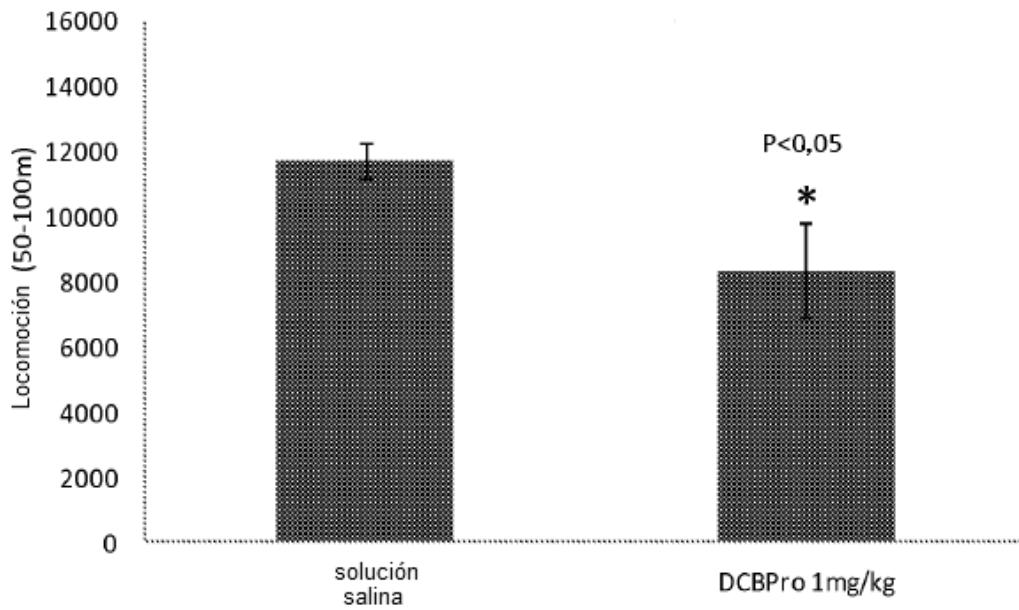
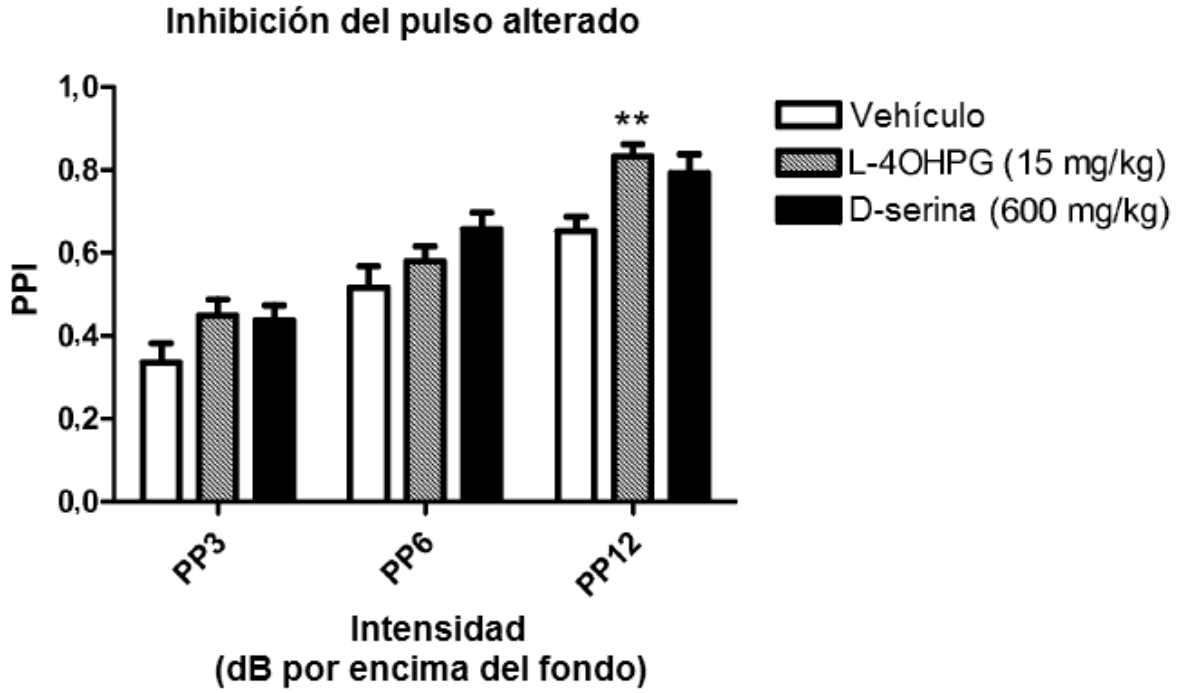


Figura 12: Efectos de L-4OHPG y D-serina sobre la inhibición del pulso alterado en ratones

A



B

