

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 658 070**

51 Int. Cl.:

A61K 31/525 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.03.2006 PCT/US2006/008233**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.09.2006 WO06098979**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.03.2006 E 06748317 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.11.2017 EP 1855682**

54 Título: **Formas de dosificación de aminopterin para trastornos inflamatorios**

30 Prioridad:

11.03.2005 US 78271

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

08.03.2018

73 Titular/es:

**AMINOPTERIN LLC (100.0%)
215 Clay Street NW, Suite B-5
Auburn, WA 98001, US**

72 Inventor/es:

ZEBALA, JOHN, A.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 658 070 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

Formas de dosificación de aminopterina para trastornos inflamatorios

Esta invención se desarrolló con financiación del gobierno del National Institutes of Health. El gobierno de los EE.UU puede tener determinados derechos en la invención.

5 **Antecedentes de la invención**

La aminopterina, o ácido 4-amino-pteril-L-glutámico, es un potente antifolato [véase Franklin, Patente U.S. No. 2.575.168]. Sintetizada en 1946 por los Lederle Laboratories, una división de American Cyanamid Co., la aminopterina se comercializó en comprimidos de 0,5 mg en 1953 para el tratamiento de leucemia infantil. En 1965, la comercialización de aminopterina como un producto farmacéutico en los Estados Unidos cesó.

10 En 1951, Gubner trató a pacientes con artritis reumatoide, artritis psoriásica, psoriasis no complicada, y dermatitis atópica con 0,75-2 mg/día durante duraciones de aproximadamente 1 semana y más, o dosis semanales acumulativas de más de 5,25 mg [Gubner et al., Am. J. Med. Sci. 22:176, 1951; y Gubner, Arch. Denn., Chicago 64:688, 1951]. Aunque algunos pacientes mejoraron, la mayoría de los pacientes desarrolló reacciones tóxicas incluyendo estomatitis, náusea, diarrea, y alopecia que necesitaron la interrupción del fármaco. Gubner concluyó que
15 "los efectos tóxicos de la aminopterina suponen limitaciones prácticas en su uso como un agente terapéutico" [Gubner et al., Am. J. Med. Sci. 22:176, 1951].

En 1955, Rees et al. trataron a 171 pacientes con psoriasis con cinco esquemas de dosificación usando el comprimido de 0,5 mg que comprendía: (i) 1 comprimido diariamente durante seis días; (ii) 1 comprimido
20 diariamente durante seis días, una semana de descanso, entonces 1 comprimido diariamente durante seis días; (iii) 1 comprimido diariamente durante 12 días; (iv) 2 comprimidos diariamente durante seis días; y (v) 2 comprimidos diariamente durante tres días, entonces 1 comprimido diariamente durante seis días [Rees et al., AMA Arch Derm. 72(2): 133-43, ago 1955]. Se observó un aclaramiento rápido de las lesiones psoriásicas, ocurriendo reacciones tóxicas con una frecuencia de 0%, 2,5%, 13%, y 30% en los esquemas (i), (ii), (iii) y (iv), respectivamente. Se trataron demasiados pocos pacientes con el esquema (v) para hacer una evaluación. Las reacciones tóxicas
25 incluyeron estomatitis, alopecia, y leucopenia. Cuando los esquemas anteriores se concluyeron, las lesiones psoriásicas recurrieron invariablemente, habitualmente en semanas. Se proporcionaron a algunos pacientes múltiples cursos de los esquemas anteriores, con periodos de descanso entre los cursos.

En 1958, Edmundson y Guy trataron a pacientes con un esquema que comprendía 1 comprimido diariamente durante seis días, abandono durante tres días, y de nuevo diariamente durante seis días, para un total de 6 mg en
30 12 dosis [Edmundson y Guy, AMA Arch. Derm. 78(2):200-3, ago 1958]. Se observó mejoría, y las remisiones duraron típicamente varios meses.

En 1959, Rees y Bennett reportan el tratamiento de 329 pacientes con psoriasis usando los mismos esquemas de su estudio de 1955 [Rees y Bennett, J. Invest. Dermatol. 32(1):61-66, ene 1959]. Los cursos de los esquemas se repitieron en algunos pacientes cada 3 semanas a una vez cada 3 años, aunque no se describe qué esquemas se
35 repitieron. La incidencia global de toxicidad fue 21% y las reacciones tóxicas más comunes fueron estomatitis e intensificación de las lesiones, seguido de alopecia, alteraciones en el GI, y leucopenia. Los autores observaron que el tratamiento debería interrumpirse al menor indicio de una reacción tóxica.

En 1961, Rees y Bennett compararon el efecto de dosis diarias de 0,5 mg de aminopterina frente a dosis diarias de 2,5 mg de metotrexato usando los mismos esquemas de su estudio de 1955 [Rees y Bennett, Arch. Dermatol. 83:970-72, ene 1961]. En 1963, Strakosh también comparó el efecto de dosis diarias de 0,5 mg de aminopterina frente a dosis diarias de 2,5 mg de metotrexato según esquemas que comprenden: (i) 1 comprimido diariamente durante 12 días, seguido de una semana de descanso, y repetido tan frecuentemente como se considere aconsejable; (ii) 1 comprimido diariamente durante 3 días seguido de un periodo de tres días de descanso y repetido hasta que se proporcionan 12 comprimidos en total, y después seguido de un periodo de una semana de descanso y repetido tan frecuentemente como se considere aconsejable; y (iii) cualquier variación de (i) y (ii) anteriores [Strakosch, Dermatologica 126:259-267, 1963]. Ambos concluyeron que el metotrexato es menos tóxico y menos eficaz que la aminopterina en el tratamiento de la psoriasis. Sin embargo, las dosis comparadas no eran equipotentes entre sí, con el metotrexato siendo usado en una cantidad 4 veces menor de lo que se requeriría para ser equipotente con la aminopterina. Así, por los estándares modernos no se podrían extraer conclusiones respecto a la eficacia relativa real, toxicidad, o índice terapéutico de estos antifolatos. Posteriormente, Rees et al. sugieren lo opuesto, que el metotrexato puede ser más seguro y eficaz que la aminopterina en el tratamiento de la psoriasis [Rees et al., Arch. Dermatol. 90:544-52, dic 1964].

En 1964, Rees et al. revisaron la bibliografía sobre el estándar de práctica con aminopterina en el tratamiento de la

psoriasis, describiendo todos los esquemas de administración conocidos [Rees et al., Arch. Dermatol. 90:544-52, dic 1964]. En todos los casos, los esquemas de dosificación fueron similares, estando comprendidos por dosificaciones diarias de comprimidos durante periodos mayores de 1 semana hasta que se observó eficacia o toxicidad, tiempo en el cual la dosificación se interrumpió por periodos de descanso de duración variada.

- 5 La técnica anterior también contiene varios reportes del uso de aminopterin para reducir inflamación en modelos animales. En 1952, Gubner et al. demostraron la eficacia de dosis semanales acumulativas de 0,3 mg/kg de aminopterin en el modelo de artritis por formaldehído en rata [Gubner et al., J. Invest. Dermatol. 19(4):297-305, oct 1952]. En 1964, Page demostró la eficacia de dosis semanales acumulativas de 0,35 mg/kg de aminopterin en el modelo de inflamación dérmica en conejo, pero en el proceso los animales se volvieron gravemente leucopénicos y un sujeto murió [Page, Ann. N Y. Acad. Sci. 116:950-63, ago 27, 1964]. En 1986, Galivan *et al.* demostraron la eficacia de dosis semanales acumulativas de 0,12 mg/kg de aminopterin en el modelo de artritis por adyuvante en rata, pero los animales padecieron toxicidad grave [Galivan, et al., Methotrexate in adjuvant arthritis, en Chemistry and Biology of Pteridines 1986. Pteridines and Folic Acid Derivatives, B.A. Cooper y V.M. Whitehead, Editores. 1986, Walter de Gruyter & Co.: Berlín. p. 847-49]. De forma similar, en 2000 Andersson *et al.* demostraron la eficacia de dosis semanales acumulativas de > 1,5 mg/kg de aminopterin en el modelo de artritis inducida por antígeno en rata, pero de nuevo los animales padecieron toxicidad grave [Andersson, et al., Eur. J. Pharm. Sci. 9(4):333-43, 2000].

WO02/13829 describe composiciones que contienen un inhibidor de dihidrofolato reductasa y un folato.

US2004/176381 describe un envasado de cumplimiento de metotrexato.

WO2005/089767 describe el uso de aminopterin para tratar cáncer y trastornos inflamatorios.

- 20 Ratliff A.F. et al, Journal of Clinical Oncology, vol. 15 no. 4, 2000: 1458-1464 describe un régimen para aminopterin.

Resumen de la invención

- 25 Se ha descubierto en la presente invención descrita en la presente memoria dosificaciones y usos en métodos para tratar a un paciente con un trastorno inflamatorio con una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterin, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, que proporcionan ventajas inesperadas de conveniencia para el paciente sin crear manifestaciones de toxicidad concomitantes. En particular, se ha descubierto que la aminopterin puede usarse en ciclos ininterrumpidos de dosis como un agente anti-inflamatorio, y en algunas realizaciones a dosis menores de las previamente enseñadas en la técnica.

- 30 En un aspecto, se proporciona una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterin o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio en un paciente seleccionado del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, psoriasis, artritis psoriásica, y displasia broncopulmonar, en el que el patrón de administración del medicamento comprende la etapa de administrar el medicamento a dicho paciente en ciclos ininterrumpidos, de al menos cuatro ciclos, en el que la cantidad de aminopterin proporcionada en cada ciclo está en el intervalo de 0,001 a 0,07mg por kilogramo del peso corporal del paciente.

- 35 Una realización de la invención es un uso de aminopterin en un método para tratar afecciones inflamatorias con aminopterin sin crear manifestaciones de toxicidad inaceptables. Otra realización relacionada es el uso de aminopterin en un método para tratar displasia broncopulmonar. Además, se ha descubierto que las dosis de aminopterin pueden administrarse en formas de dosificación que contienen menos aminopterin por comprimido que lo descrito por publicaciones anteriores. Estas menores dosis se consiguen por el desarrollo de comprimidos que contienen menos de 0,5 mg de aminopterin, lo que permite la administración de dosis menores a los pacientes y también permite la capacidad de personalizar estas dosis menores más exactamente al peso corporal de un paciente particular.

- 45 Otra realización de la invención es el tratamiento de artritis reumatoide o artritis psoriásica en seres humanos con una dosis semanal de aminopterin de 5,25 mg o menos. Una realización relacionada de la invención es un método de dosificación de un ser humano con psoriasis con una dosis semanal acumulativa de menos de 2 mg/kg de aminopterin. Una realización relacionada es una forma de dosificación de aminopterin que contiene menos de 0,5 mg por comprimido. Un experto en la técnica apreciará que los aspectos y realizaciones de la invención identificados anteriormente evitan la toxicidad y los esquemas de dosificación irregulares de la aminopterin que fueron el mayor inconveniente para los pacientes con trastornos inflamatorios. Otra realización de la invención son comprimidos que contienen menos de 0,5 mg de aminopterin por comprimido, lo que hace posible administrar dosis menores y también facilita la personalización de dosis menores al peso de un paciente particular con el fin de evitar toxicidad.

Aún además, se ha descubierto que los antifolatos y aminopterina en particular son eficaces en el tratamiento de displasia broncopulmonar, y trastornos inflamatorios que ocurren naturalmente en animales domésticos y agrícolas, y en algunas realizaciones con sólo una única dosis de aminopterina. En particular, las realizaciones de la presente invención proporcionan:

- 5 Un uso de aminopterina en un método para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en ciclos ininterrumpidos.

10 En realizaciones preferidas, el número de ciclos ininterrumpidos es al menos 24. En otras realizaciones preferidas más, la periodicidad de los ciclos ininterrumpidos es semanal, en el que el número de dosis en cada ciclo es 2, y más preferiblemente 1.

En algunas realizaciones, se usa un segundo fármaco en terapia de combinación. El ácido fólico se prefiere particularmente como el segundo fármaco.

15 Típicamente, cada ciclo consiste en menos de 0,07 mg de aminopterina por kilogramo del peso corporal del paciente que puede administrarse en menos de 5 comprimidos. La dosificación óptima sin manifestaciones de toxicidad se consigue en realizaciones particularmente preferidas utilizando uno o más comprimidos que contienen menos de 0,5 mg de aminopterina cada uno.

20 En otras realizaciones, se proporciona un uso de aminopterina para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una única dosis de una cantidad terapéuticamente efectiva de un antifolato, o una sal farmacéuticamente aceptable de éste, en el que el antifolato es aminopterina. Los trastornos inflamatorios preferidos que pueden tratarse con una única dosis de un antifolato incluyen displasia broncopulmonar humana.

25 En otras realizaciones, se proporciona el uso de aminopterina para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en el que la cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina administrada por semana es menos de 0,07 mg de aminopterina por kilogramo del peso corporal del paciente. En este método, la aminopterina se administra preferiblemente en uno o más comprimidos, en el que al menos un comprimido contiene menos de 0,5 mg de aminopterina.

30 En otras realizaciones se proporciona un uso de aminopterina para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en el que el trastorno inflamatorio se trata más rápidamente que con metotrexato. La tasa de tratamiento se cuantifica con un sistema de puntuación de manifestación de la enfermedad seleccionado del grupo que consiste en ACR20, ACR50, ACR70, ACR-N, JRA30%DOI, JRA50%DOI, JRA70%DOI, PASI, ensayo de la función pulmonar, saturación de oxígeno, puntuaciones de lesiones, y puntuaciones de prurito. En otras realizaciones, la tasa de tratamiento se cuantifica por el área bajo la curva de eficacia-tiempo.

35 En otras realizaciones, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en el que la composición farmacéutica contiene menos de 0,5 mg de aminopterina. La composición farmacéutica es preferiblemente un comprimido, y en determinadas realizaciones es un comprimido de 0,1 mg ó 0,2 mg. En una realización particularmente preferida, el ingrediente farmacéutico activo está sustancialmente libre de impurezas.

40 Estos y otros aspectos de la presente invención serán evidentes después de la referencia a la descripción detallada y los ejemplos ilustrativos que se pretende que ejemplifiquen realizaciones no limitantes de la invención.

Glosario

Antes de presentar la invención con detalle, puede ser de ayuda para una comprensión de ésta, mostrar definiciones de determinados términos que se usarán de aquí en adelante.

45 El término "ingrediente farmacéutico activo" tal y como se usa en la presente memoria significa una mezcla de un antifolato e impurezas que resultan de una o más etapas de síntesis orgánica. Una etapa de síntesis orgánica comprenderá la transformación parcial o completa de uno o más compuestos químicos a uno o más compuestos químicos nuevos, y también conllevará habitualmente al menos una o más etapas de purificación para enriquecer el uno o más compuestos químicos nuevos. La una o más etapas de purificación consistirán en métodos conocidos para los expertos en la técnica, tales como, por ejemplo, cristalización, extracción, y cromatografía. Idealmente, las

50

etapas de purificación no se requieren, o la una o más etapas de purificación enriquecerán un único compuesto químico nuevo preferentemente. Por ejemplo, un ingrediente farmacéutico activo que contiene aminopterina se prepara por la transformación de 2,4-diamino-6-(bromometil)pteridina y ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico en dimetilacetamida a aminopterina más varias impurezas, en el que las impurezas comprenden al menos ácido fólico y 2,4-diamino-6-(bromometil)pteridina y ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico no transformados.

El término "pureza de aminopterina" tal y como se usa en la presente memoria significa el porcentaje de antifolato en un ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica, en el que el antifolato es aminopterina (véase la definición en el glosario de "impurezas").

El término "antifolato" tal y como se usa en la presente memoria significa una molécula y/o metabolitos de la molécula que interfieren con el metabolismo o utilización normal de ácido fólico (es decir, folato) y/o metabolitos de ácido fólico en un sistema bioquímico sin células o en células encontradas en cultivo celular, cultivo tisular, leucemia, cáncer, un mamífero, y un ser humano. Por ejemplo, la aminopterina y el metotrexato, así como sus metabolitos poliglutamados, son antifolatos. Típicamente, un antifolato y/o metabolito del antifolato interferirá con el metabolismo o utilización normal del ácido fólico y/o metabolitos del ácido fólico mediante el bloqueo de su unión a una o más enzimas o receptores que incluyen, por ejemplo, el receptor de folato reducido, el receptor de ácido fólico, folilpoliglutamato sintasa, dihidrofolato reductasa, timidilato sintasa, metilén-tetrahidrofolato reductasa, amido fosforibosiltransferasa, glicinamida ribonucleótido transformilasa, aminoimidazol carboxamida ribonucleótido transformilasa, y homocisteína metiltransferasa. Los ejemplos de metabolitos del ácido fólico con los que un antifolato y/o metabolitos del antifolato interferirán incluyen, pero no están limitados a, 5- metil-tetrahidrofolato-(glu)_n, 5,10-metilen-tetrahidrofolato-(glu)_n, tetrahidrofolato-(glu)_n, N-5-fomamino-tetrahidrofolato-(glu)_n, 5,10-metenil-tetrahidrofolato-(glu)_n, 10-formil-tetrahidrofolato-(glu)_n, y 5-formil-tetrahidrofolato-(glu)_n, donde -(glu)_n se refiere a los glutamatos unidos al metabolito y n es el número de glutamatos unidos. Cuando n = 1, no se han añadido glutamatos a esos metabolitos del ácido fólico más allá de los encontrados en la molécula original de ácido fólico. Cuando n es mayor de 1 esos metabolitos de ácido fólico se considera que son poliglutamatos (véase el término en el glosario más adelante).

El término "AUC" tal y como se usa en la presente memoria significa el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo para una única dosis de un fármaco como se describe más completamente en Shargel y Yu, Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 4ª Edición, 1999, Appleton & Lange, Stamford, CT. La AUC es proporcional a la cantidad de fármaco que alcanza el plasma.

El término "terapia de combinación" tal y como se usa en la presente memoria se refiere al uso de dos o más terapéuticos según un protocolo terapéutico con el objetivo de proporcionar un plan de tratamiento altamente optimizado para tratar lo más eficazmente un trastorno inflamatorio en un paciente.

El término "manifestación de la enfermedad " tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier resultado no deseado de un trastorno inflamatorio. Las manifestaciones de la enfermedad particulares incluyen, pero no están limitadas a letargia, dolor articular, inflamación articular, daño articular, células inflamatorias en fluido articular, y lesiones cutáneas psoriásicas. Las manifestaciones de la enfermedad se cuantifican frecuentemente en la técnica usando sistemas de puntuación muy conocidos, tales como por ejemplo, ACR20, ACR50, ACR70 o ACR-N en artritis reumatoide (Felson et al., Arthritis Rheum. 38:727, 1995; Bathon et al., N Engl. J. Med. 343:1586,2000; y William St. Clair et al., Arthritis Rheum. 50(11):3432-3443, 2004); JRA30%DOI, JRA50%DOI y JRA70%DOI en artritis reumatoide juvenil (Giannini et al., Arthritis Rheum. 40(7):1202-1209, 1997; y Lovell et al., Arthritis Rheum. 48(1):218, 2003), la puntuación PASI (Psoriasis Activity and Severity Index) en psoriasis (Finlay et al., Br. J. Dermatol. 123:751, 1990); ensayo de la función pulmonar y saturación de oxígeno en displasia broncopulmonar; y puntuaciones lesionales y de prurito en dermatitis atópica canina (Olivry y Mueller, Veterinary Dermatol. 14:121-146, 2004). Otras maneras de cuantificar las manifestaciones de la enfermedad en un paciente con un trastorno inflamatorio serán familiares para los expertos en la técnica.

El término "eficacia" tal y como se usa en la presente memoria significa que un antifolato es terapéuticamente efectivo. Generalmente, un mayor nivel de eficacia se conseguirá mediante el incremento de la dosis y/o frecuencia de administración de un antifolato proporcionado a una población, de manera que una mayor proporción de la población recibirá un beneficio y/o habrá una mayor magnitud de beneficio en un paciente individual. Si un primer antifolato es más potente que un segundo antifolato, alcanzará un mayor nivel de eficacia que el segundo antifolato usando cantidades idénticas de cada uno.

El término "impurezas" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a las impurezas encontradas en el ingrediente farmacéutico activo. Las impurezas que surgen durante las etapas de síntesis orgánicas empleadas en la preparación del ingrediente farmacéutico activo, y en el caso de aminopterina incluyen, por ejemplo, ácido fólico, pterinas, y conjugados de ácido p-aminobenzoico (es decir, pABAglu). Las impurezas pueden resultar de la transformación incompleta de compuestos químicos durante una etapa de síntesis orgánica, o una o más reacciones

laterales que resultan en que los compuestos químicos se transformen en compuestos químicos nuevos no pretendidos. Tal y como se define en la presente memoria, los vehículos farmacéuticamente aceptables e ingredientes terapéuticos opcionales en una composición farmacéutica no constituyen impurezas. Las impurezas en una composición farmacéutica se refieren sólo a aquellas impurezas en el ingrediente farmacéutico activo usado para preparar la composición farmacéutica. Las impurezas se cuantifican usando cualquier propiedad mensurable adecuada para cuantificar moléculas. Dichas propiedades mensurables serán familiares para los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, área del pico de HPLC (es decir, "área"), masa y moles. Las impurezas se cuantificarán típicamente convenientemente sobre la base de su área, pero también pueden cuantificarse según su peso o moles usando, por ejemplo, absorbancia uv de las fracciones del pico de HPLC recogidas y el coeficiente de extinción conocido y peso molecular de cada impureza. Si el peso molecular de una impureza no se conoce, puede usarse espectrometría de masa. El porcentaje de una impureza en un ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica es la cantidad de la impureza dividida por la cantidad total de impurezas más antifolato multiplicado por 100, en el que todas las impurezas y el antifolato se cuantifican usando la misma propiedad mensurable. Por ejemplo, el porcentaje de una impureza en un ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica puede expresarse como un % de área, % de peso, o % de moles. En un ejemplo específico, si una impureza constituye 0,1 micromoles de un ingrediente farmacéutico activo y la aminopterina más impurezas totales en el ingrediente farmacéutico activo conjuntamente constituyen 1 micromol, el porcentaje de la impureza en el ingrediente farmacéutico activo es 10% en moles. En otro ejemplo, si una impureza es 0,25 unidades de área de una composición farmacéutica y las impurezas totales más antifolato conjuntamente son 1,0 unidad de área de la composición farmacéutica, el porcentaje de la impureza en la composición farmacéutica (o el ingrediente farmacéutico activo) es 25% del área. En un ejemplo adicional, si una impureza es 0,04 mg de una composición farmacéutica que contiene 2 mg del ingrediente farmacéutico activo, el porcentaje de la impureza en la composición farmacéutica es 2% en peso. El porcentaje de impurezas totales puede obtenerse sumando los porcentajes de todas las impurezas individuales en el ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica, en el que todas las impurezas individuales se cuantifican usando la misma propiedad mensurable. El porcentaje de antifolato en un ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica es la cantidad de antifolato dividida por la cantidad total de impurezas más antifolato multiplicado por 100, en el que todas las impurezas y el antifolato se cuantifican usando la misma propiedad mensurable. Así, el porcentaje de impurezas totales en el ingrediente farmacéutico activo o composición farmacéutica puede obtenerse alternativamente restando el porcentaje de antifolato del 100%.

El término "biodisponibilidad oral" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la fracción de una dosis de antifolato proporcionada oralmente que se absorbe en el plasma después de una única administración a un paciente. Un método preferido para determinar la biodisponibilidad oral es dividiendo la AUC de una dosis de antifolato proporcionada oralmente por la AUC de la misma dosis de antifolato proporcionada intravenosamente al mismo paciente, y expresando la relación como un porcentaje. Otros métodos para calcular la biodisponibilidad oral serán familiares para los expertos en la técnica, y se describen con mayor detalle en Shargel y Yu, Applied Biopharmaceutics and Pharmacokinetics, 4ª Edición, 1999, Appleton & Lange, Stamford, CT.

El término "paciente" es un animal o un ser humano.

El término "composición farmacéutica" tal y como se usa en la presente memoria significa el ingrediente farmacéutico activo combinado con uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables adecuados serán familiares para los expertos en la técnica, y comprenderán, por ejemplo, celulosa microcristalina, lactosa, dióxido de silicio, croscarmelosa, benzoato de sodio, sorbitol, estearato de magnesio y saporífero. El ingrediente farmacéutico activo comprenderá típicamente sólo un pequeño porcentaje de la composición farmacéutica total. Por ejemplo, un "comprimido de 2 mg de aminopterina" es una composición farmacéutica que pesa aproximadamente 100 mg, y comprende aproximadamente 98 gramos de vehículos farmacéuticamente aceptables y aproximadamente 2 mg del ingrediente farmacéutico activo. Los 2 mg del ingrediente farmacéutico activo consisten en su mayor parte en aminopterina y una pequeña fracción de impurezas (véase la definición en el glosario de "impurezas" e "ingrediente farmacéutico activo"). Si esta composición farmacéutica se dice que está "sustancialmente libre de impurezas", entonces la pequeña fracción de impurezas será, por ejemplo, un porcentaje de menos de 5% de área, menos de 5% en peso, o menos de 5% en moles del ingrediente farmacéutico activo (véase la definición en el glosario de "sustancialmente libre de impurezas").

El término "poliglutamatos" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a metabolitos folato y antifolato que tienen unidos dos o más glutamatos. La enzima folilpoliglutamato sintasa une glutamatos adicionales a metabolitos folato y algunos antifolatos más allá del glutamato que está en el metabolito folato original y algunos antifolatos para formar una cadena de poliglutamato. Los ejemplos de poliglutamatos aminopterina y metotrexato incluyen aminopterina-(glu)_n y metotrexato-(glu)_n, donde -(glu)_n se refiere a los glutamatos unidos al antifolato y n es el número de glutamatos unidos. Cuando n = 1, no se han añadido glutamatos más allá del que está en la molécula de antifolato original. Cuando n es mayor de 1 estos antifolatos se considera que son poliglutamatos, y así tienen una cadena de poliglutamato. Una cadena de poliglutamato se dice que tiene una longitud, en el que una primera cadena de poliglutamato se dice que tiene una longitud mayor que una segunda cadena de poliglutamato si el n de la

primera cadena de poliglutamato es mayor que el n de la segunda cadena de poliglutamato. Los metabolitos folato y antifolato que tienen cadenas de poliglutamato se refieren frecuentemente como especies poliglutamadas o poliglutamatos. Una mezcla de cadenas de poliglutamato que tienen diferentes longitudes se dice que comprende longitudes de cadenas de poliglutamato. Tanto aminopterina como metotrexato se metabolizan a poliglutamatos que tienen un n de 2 a aproximadamente 5, como se describe con más detalle en, Gangjee et al., Curr.Med. Chem.Anti-Canc.Agents. 2(3):331,2002.

El término "potencia" tal y como se usa en la presente memoria significa la eficacia de una dosificación para conseguir un nivel particular de eficacia. La dosificación tiene en cuenta la cantidad de fármaco proporcionada en cada administración (es decir, dosis), la frecuencia de administración, y opcionalmente, el número total de dosis que se va a proporcionar. La eficacia de una dosificación puede cuantificarse midiendo la cantidad acumulativa de fármaco administrada en un periodo definido (es decir, la "tasa de dosis") de la dosificación y que resulta en un nivel particular de eficacia, donde la eficacia y potencia están inversamente relacionadas con la tasa de dosis. Un primer fármaco cuya dosificación tiene una mayor eficacia o potencia que la dosificación de un segundo fármaco se dice que es más potente que el segundo fármaco. Por ejemplo, un primer antifolato es más potente que un segundo antifolato si ambos consiguen el mismo nivel de eficacia usando una tasa de dosis que es menor en el primer antifolato que el segundo antifolato. En un ejemplo más específico, un primer antifolato es más potente que un segundo antifolato si ambos consiguen el mismo nivel de eficacia usando una dosificación que es idéntica excepto por la dosis del primer antifolato que es menor que la dosis del segundo antifolato. En un ejemplo adicional, un primer antifolato es más potente que un segundo antifolato si ambos consiguen el mismo nivel de eficacia usando una dosificación que es idéntica excepto por la frecuencia de administración del primer antifolato que es menor que la frecuencia de administración del segundo antifolato. Dos antifolatos diferentes pueden tener diferentes potencias, y por lo tanto conseguirán el mismo nivel de eficacia a diferentes cantidades terapéuticamente efectivas. Por ejemplo, la aminopterina es aproximadamente 25 veces más potente que el metotrexato, y por lo tanto la cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina requerida para un nivel de eficacia es aproximadamente 25 veces menor que la cantidad terapéuticamente efectiva de metotrexato requerida para el mismo nivel de eficacia. Las cantidades terapéuticamente efectivas de dos antifolatos (es decir, bien como una dosificación o como una dosis única) que resultan generalmente en el mismo nivel de eficacia se refieren en la presente memoria como equi-potentes. Por ejemplo, dos dosis orales de 2 mg/m² de aminopterina son aproximadamente equi-potentes a cuatro dosis orales de 25 mg/m² de metotrexato.

El término "sustancialmente libre de impurezas" tal y como se usa en la presente memoria significa que el porcentaje de impurezas totales en un ingrediente farmacéutico activo o en una composición farmacéutica es menos de cinco por ciento (véase la definición de "impurezas"). Por ejemplo, una composición farmacéutica o ingrediente farmacéutico activo se dice que está sustancialmente libre de impurezas si el porcentaje de impurezas totales es menos de 5% de área, 5% en peso ó 5% en moles. Tal y como se usa en la presente memoria, "sustancialmente libre de impurezas" también significa que el porcentaje de antifolato en un ingrediente farmacéutico activo o en una composición farmacéutica es noventa y cinco por ciento o mayor (véase la definición de "impurezas"). Por ejemplo, una composición farmacéutica que tiene un porcentaje de antifolato con un % de área, % en peso, o % en moles igual a o mayor de noventa y cinco, se dice que está sustancialmente libre de impurezas. En un ejemplo más específico, una composición farmacéutica o ingrediente farmacéutico activo que tiene una pureza de aminopterina con un % de área, % en peso, o % en moles igual a o mayor de noventa y cinco, se dice que está sustancialmente libre de impurezas.

El término "componente terapéutico" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a una dosificación terapéuticamente efectiva (es decir, dosis y frecuencia de administración) que elimina, reduce, o previene la progresión de una manifestación de enfermedad particular en un porcentaje de una población. Un ejemplo de un componente terapéutico usado comúnmente es la DE₅₀, que describe la dosis en una dosificación particular que es terapéuticamente efectiva para una manifestación de enfermedad particular en el 50% de una población.

El término "índice terapéutico" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la tasa de un componente de toxicidad particular (es decir, la dosis que es tóxica en un porcentaje de una población, por ejemplo, la DT₅₀) a un componente terapéutico particular (es decir, la dosis que es efectiva en un porcentaje de una población, por ejemplo, la DE₅₀). Un experto en la técnica entenderá que no es necesario que la determinación del índice terapéutico de un antifolato, tal como aminopterina, se determine para cada paciente en una población con un trastorno inflamatorio tratado según la invención. Es suficiente usar un número representativo de pacientes con el trastorno inflamatorio para establecer un índice terapéutico para la población completa de pacientes con el trastorno inflamatorio, donde al menos 5 pacientes con el trastorno inflamatorio se requerirán con el fin de establecer un índice terapéutico para la población completa de pacientes con el trastorno inflamatorio.

El término "protocolo terapéutico" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a un esquema de dosificación, rutas de administración, y duración del esquema para dos o más fármacos que se emplean en terapia de combinación. El esquema puede dividirse además en fases específicas cada una de una duración especificada. Por ejemplo, las fases del tratamiento moderno de la artritis reumatoide que implican el tratamiento con NSAID y varios

otros DMARDS que son moléculas pequeñas o biológicos bien secuencialmente o conjuntamente constituyen fases específicas de un protocolo terapéutico. Durante cada fase, el tipo de fármacos que se va a proporcionar, su dosificación, y rutas de dosificación están definidas para todos los pacientes en general o pueden modificarse sobre la base de otros factores de la enfermedad tales como ensayos de laboratorio o de formación de imágenes.

5 El término "cantidad terapéuticamente efectiva" tal y como se usa en la presente memoria significa la dosificación (dosis o cantidad, y frecuencia) de antifolato que mata directamente o indirectamente las células inflamatorias, para la acumulación de células inflamatorias, o reduce la acumulación de células inflamatorias en un ser humano u otro mamífero que padece un trastorno inflamatorio tal como, por ejemplo, artritis reumatoide juvenil, dermatitis atópica, displasia broncopulmonar, artritis psoriásica y psoriasis. El término tal y como se usa en la presente memoria también debe significar la dosificación de un antifolato que directamente o indirectamente reduce o incrementa la actividad de moléculas secretadas por células inflamatorias y/o no inflamatorias que participan en un trastorno inflamatorio en un ser humano o mamífero, de manera que la cantidad de antifolato para, reduce, o elimina conjuntamente el grado de inflamación patológica asociada con el trastorno inflamatorio. Típicamente, una cantidad terapéuticamente efectiva también eliminará, reducirá, o prevendrá la progresión de, una o más manifestaciones de la enfermedad. Un experto en la técnica reconoce fácilmente que en muchos casos los antifolatos pueden no proporcionar una cura, sino que sólo pueden proporcionar un beneficio parcial. Además, el experto en la técnica reconoce que debido a que los pacientes individuales y los estados patológicos pueden variar, algunos pacientes pueden recibir un pequeño beneficio, o ninguno en absoluto. Una dosificación de antifolato que "mata", "para", "reduce" o "elimina" como se ha descrito anteriormente, en al menos algunos pacientes, se considera terapéuticamente efectivo. La magnitud de la dosis de una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina en la gestión aguda o crónica de un trastorno inflamatorio variará con la gravedad del trastorno inflamatorio que se va a tratar y la ruta de administración. La dosificación y tasa de dosis de aminopterina dependerá de una variedad de factores, tales como el peso y área superficial calculada del paciente, la composición farmacéutica específica usada, el objeto del tratamiento, es decir, terapia o profilaxis, la naturaleza de la enfermedad que se va a tratar, el criterio del médico responsable, y la respuesta del paciente individual. En general, una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina será una dosis de aminopterina de 0,001-0,07 mg/kg, 0,005-0,03 mg/kg, y lo más preferiblemente 0,010-0,03 mg/kg, proporcionada como una dosis única o dividida. Los pacientes pueden titularse de forma ascendente por debajo de estos intervalos de dosis hasta un control satisfactorio de manifestaciones de la enfermedad. Una vez que se ha producido la mejoría en la afección del paciente, se administra una dosificación de mantenimiento de una composición de esta invención, si es necesario. Posteriormente, la tasa de dosis puede reducirse mediante la reducción de la dosis o frecuencia de administración, o una combinación de ambos, como una función de los síntomas, hasta un nivel en el que se retiene la afección mejorada. Cuando los síntomas se han aliviado hasta el nivel deseado, el médico puede elegir cesar el tratamiento. Los pacientes pueden requerir, sin embargo, un tratamiento intermitente después de cualquier recurrencia de los síntomas de la enfermedad, o tratamientos programados de manera profiláctica, según se requiera. La cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina puede administrarse opcionalmente antes de, simultáneamente con, o después de al menos una dosis terapéuticamente efectiva de leucovorina o ácido fólico.

40 El término "componente de toxicidad" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a la dosificación (es decir, dosis y frecuencia de administración) requerida para producir una manifestación de toxicidad en un porcentaje de una población. Un ejemplo de un componente de toxicidad usado comúnmente es la DT50, que describe la dosis en una dosificación particular requerida para producir una manifestación de toxicidad en el 50% de una población. Generalmente, hay una relación inversa entre la dosis y frecuencia necesarias para producir el mismo componente de toxicidad, donde menos antifolato proporcionado más frecuentemente producirá el mismo componente de toxicidad que más antifolato proporcionado menos frecuentemente.

45 El término "manifestación de toxicidad" tal y como se usa en la presente memoria se refiere a cualquier efecto no deseado de un fármaco. Un fármaco se dice que es tóxico o que tiene toxicidad si causa una manifestación de toxicidad en un porcentaje de una población. Para los antifolatos, las manifestaciones de toxicidad particulares incluyen, pero no están limitadas a mucositis, alopecia, diarrea, mielosupresión, nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, hepatotoxicidad grave, neurotoxicidad, y muerte. Las manifestaciones de toxicidad también incluyen indicaciones indirectas de toxicidad tal como trombocitopenia (por ejemplo, < 50.000/ μ L), neutropenia (por ejemplo, < 750/ μ L), enzimas hepáticas elevadas (por ejemplo, > 5 veces lo normal), eritrocito antifolato (por ejemplo, eAMT y eMTX), la interrupción necesaria de terapia por un paciente debido a la incapacidad de soportar tratamiento adicional con el fármaco, o admisiones hospitalarias incrementadas debido a la incapacidad de continuar con la terapia. Así, un médico puede evaluar la presencia y la magnitud de una manifestación de toxicidad particular. Muchas, si no todas, las manifestaciones de toxicidad de antifolatos pueden revertirse por la administración previa, simultánea o posterior de leucovorina, un folato reducido que es muy conocido en la técnica para rescatar toxicidad por antifolato.

Descripción detallada de la invención

60 Las realizaciones de la presente invención proporcionan dosificaciones y métodos para tratar a un paciente con un trastorno inflamatorio con una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, que proporciona ventajas inesperadas de conveniencia para el paciente mientras también

consigue eficacia sin toxicidad concomitante. El trastorno inflamatorio puede ocurrir en seres humanos y comprende, por ejemplo, artritis reumatoide, artritis psoriásica, artritis reumatoide juvenil, psoriasis, y displasia broncopulmonar.

En determinadas realizaciones, la presente invención proporciona el uso de aminopterina en el tratamiento de un trastorno inflamatorio en un paciente con ciclos ininterrumpidos de dosis de aminopterina, en el que las dosis son una cantidad terapéuticamente efectiva. Ininterrumpidos significa que las dosis de aminopterina se administran repetidamente a un paciente durante al menos 4 ciclos, 12 ciclos, 24 ciclos, y lo más preferiblemente más de 52 ciclos, en el que la periodicidad de los ciclos es constante, y en el que la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo no supera 21 días, 14 días, y lo más preferiblemente 7 días. En esta definición, la 'periodicidad de los ciclos es constante' significa que la duración entre dosis correspondientes en ciclos consecutivos es constante en un intervalo de 12 horas. Por ejemplo, si la periodicidad se indica que es 7 días (es decir, 168 horas), entonces según la presente invención la expresión la 'periodicidad de los ciclos es constante' se considerará que significa que la duración entre dosis correspondientes en ciclos consecutivos puede variar de 162 a 174 horas. Además, en esta definición, el número de dosis de aminopterina en cada ciclo puede variar de 1 a 5, y cada dosis individual puede comprender tomar una o una pluralidad de formas de dosificación individuales.

Así, en una realización preferida 1 dosis de aminopterina se administra a un paciente cada 7 días durante al menos 4 ciclos, y lo más preferiblemente durante al menos 52 ciclos (es decir, un año). En este caso, el número de dosis por ciclo es sólo una dosis única, la periodicidad es 7 días, y la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo es 6 días. En otra realización preferida, una dosis de aminopterina se administra el lunes y una el martes durante al menos 52 ciclos. En este caso, el número de dosis por ciclo es 2, la periodicidad es 7 días, y la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo es 5 días (es decir, miércoles a domingo). En otra realización preferida más, una dosis de aminopterina se administra por la mañana y otra por la noche en un día de la semana particular tomando dos comprimidos con cada dosis, este ciclo se repite entonces durante al menos 52 ciclos. En este caso, el número de dosis por ciclo es 2 donde cada dosis comprende tomar 2 formas de dosificación, la periodicidad es 7 días, y la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo es 6 días (es decir, los días entre el día de la semana en el que se proporcionan las dosis). Se entenderá que otros esquemas están dentro de las realizaciones de la invención. Por ejemplo, en una realización, una dosis de aminopterina se administra el lunes y una el miércoles durante al menos 52 ciclos. En este caso, el número de dosis por ciclo es 2, la periodicidad es 7 días, y la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo es 4 días (es decir, jueves a domingo). En la realización más preferida, la periodicidad es semanal (es decir, 7 días).

En otras realizaciones, se proporcionan usos de aminopterina en métodos para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente que comprende administrar un único ciclo de aminopterina en una cantidad terapéuticamente efectiva. Lo más preferiblemente, la displasia broncopulmonar en un ser humano se trata eficazmente con un único ciclo de aminopterina, en el que el número de dosis en el ciclo es 1.

En otras realizaciones, se proporcionan usos de aminopterina en métodos para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente más rápidamente de lo que puede tratarse con metotrexato mediante la administración al paciente de una o más dosis de aminopterina en una cantidad terapéuticamente efectiva. En particular, una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina eliminará, recudirá, o prevendrá la progresión de, una o más manifestaciones de la enfermedad en el paciente más rápidamente que una cantidad terapéuticamente efectiva de metotrexato. Aunque la tasa para alcanzar una eficacia particular puede conseguirse más rápidamente con aminopterina que con metotrexato en algunas realizaciones, se entenderá que el nivel máximo final de eficacia conseguido puede ser el mismo o diferente. En realizaciones preferidas, el nivel de eficacia final conseguido será mayor para aminopterina que para metotrexato, además de que este nivel se alcanza más rápidamente con aminopterina. La tasa puede medirse usando cualquier punto final cuantitativo de la actividad de la enfermedad (véase 'manifestación de la enfermedad' y 'cantidad terapéuticamente efectiva' en el Glosario). En realizaciones preferidas, la tasa se cuantifica como una función del tiempo midiendo cualquiera de los sistemas de puntuación siguientes: ACR20, ACR50, ACR70, ACR-N, JRA30%DOI, JRA50%DOI, JRA70%DOI, PASI, ensayo de la función pulmonar, saturación de oxígeno, puntuaciones lesionales, y puntuaciones de prurito. En otras realizaciones preferidas, la tasa se cuantifica documentando un incremento en el área bajo la 'curva eficacia-tiempo', en el que la curva se establece representando gráficamente el parámetro de salida del sistema de puntuación como una función del tiempo {véase, por ejemplo, Bathon et al., N. Engl. J. Med. 343:1586, 2000 para un ejemplo de esta estrategia). El área bajo la curva de eficacia-tiempo no debe confundirse con la 'AUC' definida en el Glosario para el área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo para una dosis única de un fármaco.

En aún más realizaciones, la dosificación semanal comprende una dosis acumulativa de aminopterina que varía de 0,001-0,07 mg/kg, 0,005-0,03 mg/kg, y lo más preferiblemente 0,010-mg/kg. Para un adulto típico de 60 kg, la dosificación semanal comprende así una dosis acumulativa de aminopterina que varía de 0,06-4 mg, 0,3-1,8 mg, y lo más preferiblemente 0,6-1,8 mg. En otras realizaciones preferidas en las que la forma de dosificación es un comprimido de 0,1 mg, 0,2 mg, 0,5 mg ó 1,0 mg, la dosificación semanal comprende tomar uno a tres comprimidos por la boca de cualquier combinación de éstos. La dosis semanal acumulativa anterior de aminopterina puede

proporcionarse bien en una única administración en un tiempo particular, o como una pluralidad de administraciones durante un único día, o en múltiples días. Se ha descubierto que la aminopterina puede proporcionarse a un paciente con un trastorno inflamatorio sin manifestaciones de toxicidad, y en las realizaciones más preferidas sin interrupción.

5 Las realizaciones de la presente invención proporcionan además usos de aminopterina en métodos para tratar un trastorno inflamatorio en un paciente usando terapia de combinación, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, según un protocolo terapéutico que implica al menos un otro terapéutico. El al menos un otro terapéutico puede administrarse antes de, simultáneamente con, o después de la administración de la aminopterina. El al menos un otro terapéutico también incluye una única forma de dosificación que contiene aminopterina y al menos un otro terapéutico, una forma de dosificación múltiple, en el que la aminopterina y el al menos un otro terapéutico se administran separadamente, pero simultáneamente, o una forma de dosificación múltiple en el que los dos componentes se administran separadamente, pero secuencialmente. El al menos un otro terapéutico puede ser, por ejemplo, ácido fólico, leucovorina, dextrometorfano, memantina, prednisona, un inhibidor de cox-2, un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo, vincristina, dexametasona, asparaginasa, daunorubicina, mercaptopurina, etopósido, citarabina, doxorubicina, cisplatino, ifosfamida, paclitaxel, 5-fluoruracilo, dianidrogalcitol, tamoxifeno, piperazinadiona, mitoxantrona, diaziquona, aminotiadiazol, metotrexato, tenopósido, vincristina, equinomicina, 6-mercaptopurina, dexametasona, ciclofosfamida, receptores de TNF solubles, anticuerpos, y anticuerpos humanizados.

20 En realizaciones preferidas, una dosis de aminopterina de 0,001-0,066 mg/kg, 0,005-0,03 mg/kg, y lo más preferiblemente 0,010-0,03 mg/kg, es adecuada para uso en un protocolo terapéutico empleado durante una terapia de combinación. En algunas realizaciones, la aminopterina puede sustituirse directamente con metotrexato en un protocolo terapéutico que emplea metotrexato mediante la administración de aminopterina a aproximadamente 4-8% de la dosis de metotrexato en el protocolo. Esta sustitución rinde al menos el mismo nivel de eficacia e índice terapéutico que el metotrexato, pero con muchos menos comprimidos tomados por el paciente.

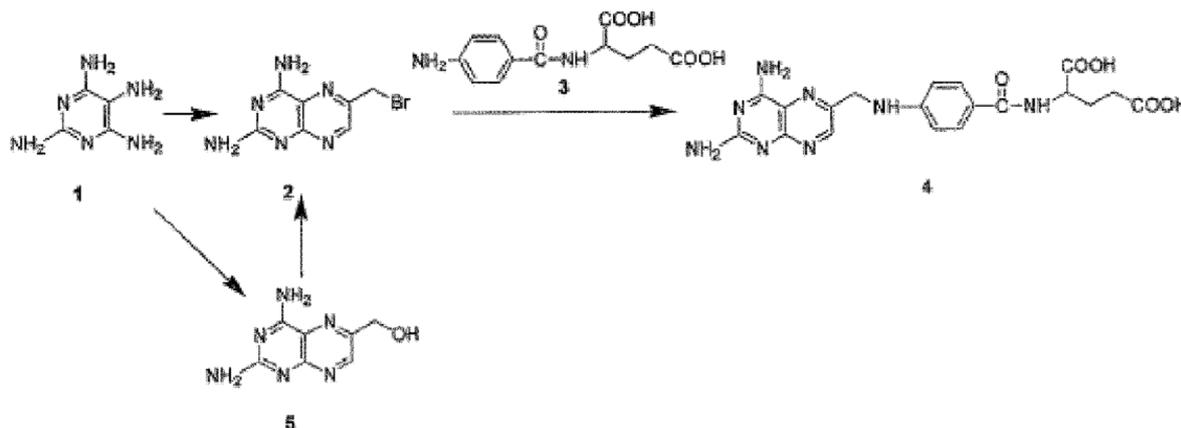
25 En una realización, la aminopterina se sustituye por metotrexato en el tratamiento de artritis reumatoide en adultos en un protocolo terapéutico que emplea otro fármaco antiinflamatorio no esteroideo mediante la administración de una única dosis oral semanal de 0,5 a 2 mg de aminopterina en lugar de una única dosis semanal de 7-25 mg de metotrexato. En otra realización, la aminopterina se sustituye por metotrexato en el tratamiento de artritis reumatoide juvenil en un protocolo terapéutico que emplea otro fármaco antiinflamatorio no esteroideo mediante la administración de una única dosis oral semanal de 0,5 a 2 mg/m² de aminopterina en lugar de una única dosis semanal de 7-25 mg/m² de metotrexato. En aún otra realización, la psoriasis en un adulto se trata en un protocolo terapéutico mediante la administración de una única dosis oral semanal de 1 a 4 mg de aminopterina en lugar de una única dosis semanal de 15-25 mg de metotrexato, o como dos dosis orales semanales de 1 a 2 mg de aminopterina en lugar de dos dosis semanales de 7-13 mg de metotrexato.

35 Una realización de la presente invención proporciona además usos de aminopterina en métodos para tratar un trastorno inflamatorio en un ser humano, que comprende administrar a dicho ser humano un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas, en el que el antifolato en el ingrediente farmacéutico activo es una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta. En algunas realizaciones, las impurezas pueden incluir, por ejemplo, ácido fólico, pterinas, y conjugados de ácido p-aminobenzoico. En realizaciones preferidas, la pureza de la aminopterina en el ingrediente farmacéutico activo es igual o mayor que el 95% en área, igual o mayor que el 95% en peso, o igual o mayor que el 95% en moles (véase "pureza de aminopterina" en el glosario). En otras realizaciones, el ingrediente farmacéutico activo tiene menos de 5% en área, menos de 5% en peso, o menos de 5% en moles de impurezas, y más preferiblemente menos de 3% en área, menos de 3% en peso, o menos de 3% en moles de impurezas. En realizaciones preferidas, la administración de un ingrediente farmacéutico activo que contiene una dosis de aminopterina de 0,03 mg/m² a aproximadamente 2 mg/m², ó 0,001-0,066 mg/kg proporcionará una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina y estará sustancialmente libre de impurezas.

50 La síntesis química de un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina puede realizarse por varias secuencias diferentes de etapas de síntesis orgánica. Se entiende que un experto en la técnica será capaz de preparar un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina a la luz de la descripción siguiente, incluyendo los Ejemplos, y la información conocida por los expertos en la técnica del campo de la síntesis química. Por ejemplo, empezando con materiales de partida fácilmente disponibles, un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina puede sintetizarse según el Esquema 1.

55

Esquema 1



Como se ha ilustrado anteriormente, la 2,4,5,6-tetraaminopirimidina disponible comercialmente, compuesto 1, puede condensarse con P-bromopiruváldoxima para proporcionar 2,4-diamino-6-(bromometil)pteridina, compuesto 2 [véase Taghavi-Moghadam y Pfeleiderer, Tet. Lett. 38:6835, 1997 y Taylor y Portnoy, J. Org. Chem. 38:806, 1973]. Alternativamente, el compuesto 1 puede hacerse reaccionar con 1,3-dihidroxiacetona para proporcionar 2,4-diamino-6-pteridinametanól, compuesto 5 [véase Baugh y Shaw, J. Org. Chem. 29:3610, 1964]. El compuesto 5 se purifica y se hace reaccionar con HBr y dibromotrifenílfosforano (Ph₃PBr₂) en dimetilacetamida para rendir el compuesto 2 [véase Piper y Montgomery, J. Org. Chem. 42:208, 1977; Piper y Montgomery, J. Heterocycl. Chem. 11:279, 1974; Piper y Montgomery, Patente U.S. No. 4.077.957; y Piper y Montgomery, Patente U.S. No. 4.079.056]. En aún otras realizaciones, puede llegarse al compuesto 2 mediante la reacción del compuesto 1 con 1,1-dicloroacetona para formar 2,4-diamino-6-(metil)pteridina, que se hace reaccionar entonces con bromo [véase Catalucci, Patente U.S. No. 4.224.446].

Independientemente de la ruta de su síntesis, el compuesto 2 se condensa con ácido N-(p-aminobenzoi)-L-glutámico disponible comercialmente, compuesto 3, en dimetilacetamida para rendir el ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina, compuesto 4, como el antifolato [véase Piper y Montgomery, J. Org. Chem. 42:208, 1977; Piper y Montgomery, Patente U.S. No. 4.077.957; Piper y Montgomery, Patente U.S. No. 4.079.056; y Catalucci, Patente U.S. No. 4.224.446].

En otras realizaciones, un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina como el antifolato puede obtenerse por la purificación de preparaciones de aminopterina contaminadas con impurezas, por ejemplo, por cromatografía de intercambio iónico o por HPLC [véase Heinrich et al., J. Am. Chem. Soc. 75:5425, 1953 y Tong et al., Lancet 2:719, 1975]. En aún otras realizaciones, un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas y que contiene aminopterina como el antifolato puede obtenerse por la transformación directa (es decir, aminación) de ácido fólico a aminopterina y purificación posterior por HPLC [véase Zimmermann, Patente U.S. No. 4.767.859].

Una realización de la presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas sustancialmente libres de impurezas y que comprenden un ingrediente farmacéutico activo, en el que el antifolato en el ingrediente farmacéutico activo es una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta. En algunas realizaciones, las impurezas pueden incluir, por ejemplo, ácido fólico, pterinas, y conjugados de ácido p-aminobenzoico. En realizaciones preferidas, la composición farmacéutica tiene menos de 5% en área, menos de 5% en peso, o menos de 5% en moles de impurezas, y más preferiblemente menos de 3% en área, menos de 3% en peso, o menos de 3% en moles de impurezas. En otras realizaciones, la pureza de la aminopterina en la composición farmacéutica es igual o mayor de 95% en área, igual o mayor de 95% en peso, o igual o mayor de 95% en moles.

En realizaciones preferidas, una composición farmacéutica que contiene de 0,2 mg a aproximadamente 2,0 mg de aminopterina proporcionará una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina y estará sustancialmente libre de impurezas. En realizaciones particularmente preferidas, una composición farmacéutica que contiene 0,5 mg de aminopterina proporcionará una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina y estará sustancialmente libre de impurezas.

La pureza de la aminopterina del ingrediente farmacéutico activo se usa para establecer cuánto ingrediente

5 farmacéutico activo se requiere en la composición farmacéutica para obtener una dosis final deseada de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en la composición farmacéutica. Por ejemplo, si una composición farmacéutica debe contener aproximadamente 1 mg de aminopterina y la pureza de la aminopterina en el ingrediente farmacéutico activo es 95% en peso, entonces se requerirán aproximadamente 1,0526 mg del ingrediente farmacéutico activo en la composición farmacéutica para proporcionar aproximadamente 1 mg de aminopterina.

10 Además del ingrediente farmacéutico activo, las composiciones farmacéuticas sustancialmente libres de impurezas contienen uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables (véase la definición en el glosario de "composición farmacéutica"). Las composiciones farmacéuticas sustancialmente libres de impurezas se preparan lo más fácilmente combinando un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas, en el que la aminopterina es el antífolato en el ingrediente farmacéutico activo, en mezcla íntima con uno o más vehículos farmacéuticos según técnicas farmacéuticas convencionales de formación de compuestos

15 El vehículo puede tomar una amplia variedad de formar dependiendo de la forma de la composición farmacéutica (es decir, "preparación" o "forma") deseada para la administración, por ejemplo, oral o parenteral (incluyendo inyecciones o infusiones intravenosas). En la preparación de la composición farmacéutica en una forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los vehículos farmacéuticos habituales. Los vehículos farmacéuticos habituales incluyen, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saporíferos, conservantes, agentes colorantes, y semejantes en el caso de preparaciones líquidas orales (tal como, por ejemplo, suspensiones, disoluciones, y elixires); aerosoles; o vehículos tales como almidones, azúcares (por ejemplo, lactosa), celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes de disgregación y semejantes, en el caso de preparaciones sólidas orales (tal como por ejemplo, polvos, cápsulas, y comprimidos) prefiriéndose generalmente las preparaciones sólidas orales sobre las preparaciones líquidas orales. Para pacientes pediátricos, sin embargo, los expertos en la técnica apreciarán que se prefieren las preparaciones líquidas orales con sabor agradable.

25 Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma de dosificación oral más ventajosa en adultos, en cuyo caso se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse por técnicas estándar acuosas o no acuosas. La forma de dosificación parenteral puede consistir en una disolución estéril del ingrediente activo, bien en su forma libre o de sal, en tampón fisiológico o agua estéril. Además, las disoluciones parenterales pueden contener conservantes tales como cloruro de benzalconio, metil- o propil-parabeno y clorobutanol. Los vehículos farmacéuticos adecuados se describen en *Remington's Pharmaceutical Sciences*, un texto de referencia estándar en este campo. En realizaciones que emplean composiciones líquidas parenterales, orales, u otras composiciones acuosas, debe tenerse cuidado ya que la sustitución electrofílica por el agua convierte la aminopterina en ácido fólico, y se ha indicado que dichas preparaciones acumulan ácido fólico a niveles no deseables durante el curso de seis meses de almacenamiento. De acuerdo con esto, dichas composiciones acuosas se almacenan desecadas de la mejor forma y se hidratan en varias horas a varios días antes de la administración al paciente.

40 Además de las formas de dosificación comunes mostradas anteriormente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden administrarse por medios de liberación controlada y/o dispositivos de administración tales como los descritos en las Pat. U.S. Nos.: 3.845.770; 3.916.899; 3.536.809; 3.598.123; 3.630.200; 4.008.719; 4.687,660 y 4.769.207.

45 Opcionalmente, la composición farmacéutica contiene otros ingredientes terapéuticos. Dichos ingredientes terapéuticos pueden añadirse para mejorar determinados efectos secundarios, particularmente los de aminopterina, o añadirse para la conveniencia del paciente mediante la reducción del número de formas de dosificación que debe tomarse. Los ingredientes terapéuticos adecuados para combinar con la composición farmacéutica pueden incluir, por ejemplo, ácido fólico, leucovorina, dextrometorfano, memantina, prednisona, un inhibidor de cox-2, un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo, vincristina, dexametasona, asparaginasa, daunorubicina, mercaptopurina, etopósido, citarabina, doxorubicina, cisplatino, ifosfamida, paclitaxel, 5-fluoruracilo, dianidrogalcitol, tamoxifeno, piperazinadiona, mitoxantrona, diaziquona, aminotiadiazol, metotrexato, tenopósido, vincristina, equinomicina, 6-mercatopurina, dexametasona, ciclofosfamida, receptores de TNF solubles, anticuerpos, y anticuerpos humanizados.

Tal y como se usa en los usos y composiciones de la presente descripción, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácido o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo ácidos y bases inorgánicos y ácidos y bases orgánicos. Las sales de sodio o di-sodio de aminopterina son sales farmacéuticamente aceptables de aminopterina.

55 Como la aminopterina es tanto básica como ácida, las sales pueden prepararse a partir de ácidos o bases no tóxicos farmacéuticamente aceptables incluyendo ácidos inorgánicos u orgánicos o bases inorgánicas y orgánicas. Dichas

sales pueden contener cualquiera de los aniones siguientes: acetato, bencenosulfonato, benzoato, camforsulfonato, citrato, fumarato, gluconato, hidrobromuro, hidrocloreuro, lactato, maleato, mandelato, mucato, nitrato, pamoato, fosfato, succinato, sulfato, tartrato y semejantes. Dichas sales también pueden contener los cationes siguientes: aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc, benzatrina, cloroprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina, y procaína.

A no ser que se especifique la ruta de administración, puede emplearse cualquier ruta de administración adecuada para proporcionar a un ser humano una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta. Por ejemplo, pueden emplearse oral, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intramuscular, y semejantes según sea apropiado. Las formas de dosificación incluyen comprimidos, comprimidos recubiertos, tabletas, dispersiones, suspensiones, disoluciones, comprimidos oblongos, cápsulas, parches, y, semejantes.

Las composiciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, e intravenosa), aunque la ruta más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y gravedad del trastorno inflamatorio que se está tratando. La ruta más preferida de la presente invención es la ruta oral. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria, y prepararse por cualquiera de los métodos muy conocidos en la técnica de farmacia.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración oral pueden presentarse como unidades discretas tales como cápsulas, sellos, o comprimidos, o pulverizadores en aerosol, conteniendo cada una una cantidad predeterminada del ingrediente farmacéuticamente activo, como un polvo o gránulos, o como una disolución o una suspensión en un líquido acuoso, un líquido no acuoso, una emulsión aceite en agua, o una emulsión agua en aceite. Dichas composiciones farmacéuticas pueden prepararse por cualquiera de los métodos de farmacia, pero todos los métodos incluyen la etapa de poner en asociación el ingrediente farmacéutico activo con al menos un vehículo farmacéutico. En general, las composiciones farmacéuticas se preparan mezclando uniformemente e íntimamente el ingrediente farmacéutico activo con vehículos farmacéuticos líquidos o vehículos farmacéuticos sólidos finamente divididos o ambos, y después, si es necesario, dando forma al producto en la presentación deseada.

Por ejemplo, un comprimido puede prepararse por compresión o moldeado, opcionalmente, con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos comprimidos pueden prepararse comprimiendo en una máquina adecuada el ingrediente farmacéutico activo en forma de flujo libre tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente tensioactivo o dispersante. Los comprimidos moldeados pueden prepararse moldeando en una máquina adecuada, una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. De forma deseable, cada comprimido contiene de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 2 mg de aminopterina o una sal terapéuticamente aceptable de ésta, y cada sello o cápsula contiene de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 2 mg de aminopterina o una sal terapéuticamente aceptable de ésta. Lo más preferiblemente, el comprimido, sello o cápsula contiene bien una o dos dosificaciones, aproximadamente 0,5 mg o aproximadamente 1 mg de aminopterina o una sal terapéuticamente aceptable de ésta.

En aún otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas contienen una cantidad terapéuticamente efectiva de aminopterina, o una sal terapéuticamente aceptable de ésta, con una desviación estándar de menos de 5%, y más preferiblemente una desviación estándar de menos de 3%. La desviación estándar es una medida de la uniformidad de la dosis (es decir, consistencia) en las composiciones farmacéuticas siendo una menor desviación estándar una indicación de una mayor uniformidad de la dosis. Las composiciones farmacéuticas pueden ser diferentes partes de una única composición farmacéutica de un único lote de formulación, o pueden ser de múltiples composiciones farmacéuticas de la misma forma de dosificación siendo cada una el resultado de diferentes lotes de formulación. Así, la desviación estándar puede ser una medida de la uniformidad de la dosis tanto en el mismo lote como entre lotes.

La desviación estándar de un antifolato en composiciones farmacéuticas se determina midiendo la cantidad de antifolato en una cantidad conocida de cada composición farmacéutica usando métodos familiares para los expertos en la técnica. Por ejemplo, la cantidad de aminopterina y metotrexato en una composición farmacéutica puede cuantificarse usando espectrofotometría uv de barrido, HPLC, o ensayo de unión de radioligando DHFR [véase Kamen et al., Anal. Biochem. 70:54, 1976 y Ratliff et al., J. Clin. Onc. 16:1458, 1998]. Tal y como se define en la presente memoria, el cálculo de una desviación estándar requiere medir la aminopterina de al menos dos partes seleccionadas aleatoriamente de un único lote de una composición farmacéutica, o de cada uno de al menos dos lotes diferentes de una composición farmacéutica.

La invención se define adicionalmente por referencia a los ejemplos siguientes que describen con detalle, los métodos, y uso y preparación de las composiciones farmacéuticas de la presente invención.

Ejemplos

En los Ejemplos 1-15 que siguen, "aminopterina" es el antifolato en un ingrediente farmacéutico activo empleado en una composición farmacéutica sustancialmente libre de impurezas.

Ejemplo 1: Eficacia en el Modelo de Inflamación de Bolsa de Aire Murino

5 Para identificar la dosis óptima de aminopterina para tratar artritis reumatoide y para cuantificar su potencia respecto a metotrexato, ensayamos aminopterina y metotrexato en un modelo de inflamación de bolsa de aire murino cuya relación de respuesta a la dosis de metotrexato se ha mostrado por Cronstein *et al.* que se correlaciona extremadamente bien con la relación de respuesta a la dosis de metotrexato en los seres humanos [Cronstein, B.N., D. Naime, y E. Ostad, The anti-inflammatory mechanism of methotrexate. Increased adenosine release at inflamed sites diminishes leukocyte accumulation in an in vivo model of inflammation. J. Clin. Invest., 1993. 92(6):2675-82].

De acuerdo con esto, se proporcionó a grupos de 5 animales cada uno (ratones macho de 10-15 semanas de edad) una dosis fija (mg/kg) por grupo de aminopterina (0,0005, 0,001, 0,002, 0,005, 0,008, 0,010, 0,050) o metotrexato (0,01, 0,02, 0,05, 0,08, 0,10, 0,50, 1,00) por inyección ip semanal en los días 1, 7, 14 y 21. A un grupo separado de 5 animales se le proporcionó vehículo por inyección ip en los mismos días (disolución salina al 0,9%, control, n=5). En el día 16, se indujeron bolsas de aire en los animales inyectando 3 ml de aire subcutáneamente en la espalda. En el día 22 (es decir, un día después de la última dosis de fármaco o vehículo), se indujo inflamación inyectando 1 ml de una suspensión de carragenano (2% en peso /volumen en PBS libre de calcio y magnesio). Los ratones se pusieron de nuevo en sus jaulas y se dejó que corrieran libres durante 4 horas. Los ratones no presentaron signos de toxicidad al final del periodo de dosificación. Después de 4 horas, los animales se sacrificaron, las bolsas se purgaron con 2 ml de PBS y se recogieron los exudados. Se diluyeron alicuotas 1:1 con azul de metileno (0,01% p/v en PBS), y las células se contaron.

Estos estudios demostraron que la aminopterina y el metotrexato disminuyeron de una forma dependiente de la dosis el número de neutrófilos que se acumularon en las bolsas de aire tratadas con carragenano con CE₅₀ de 0,0009 mg/kg/semana y 0,04 mg/kg/semana, respectivamente. Así, se encontró que la aminopterina era 43 veces más potente que el metotrexato (P <0,001). Que esta eficacia de la aminopterina puede obtenerse a dichas dosis semanales bajas no se ha reportado en la técnica anterior. Se sabe que las dosis semanales en el intervalo anterior son muchas veces por debajo de la dosis semanal máxima tolerada de aminopterina, donde mucositis justo empieza a aparecer [Ratliff, A.F., et al., Phase I and pharmacokinetic trial of aminopterin in patients with refractory malignancies. J. Clin. Oncol., 1998.16(4):1458-64].

30 Ejemplo 2: Duración de la Eficacia en el Modelo de Inflamación de Bolsa de Aire Murino

Aunque la diferencia de 43 veces en las CE₅₀ entre aminopterina y metotrexato en su actividad anti-inflamatoria se pensó que se debía lo más probablemente a la eficiencia en la captación preferencial de aminopterina, también consideramos la posibilidad de que una diferencia en la velocidad de excreción del fármaco de las células podría estar contribuyendo a esta diferencia por el incremento esencial en la magnitud del "valle" de un fármaco sobre el otro antes de cada dosis semanal. Por lo tanto, examinamos la velocidad a la que cada actividad anti-inflamatoria se perdía en el modelo de bolsa de aire después del cese de las 4 semanas de dosificación a la dosis eficaz máxima.

De acuerdo con esto, se proporcionó a los animales (ratones machos de 10-15 semanas de edad) inyecciones ip semanales de vehículo (disolución salina al 0,9%, control, n=60), aminopterina (n=60, 0,05 mg/kg) o metotrexato (n=60, 1,0 mg/kg) durante el curso de un mes en los días 1, 7, 14 y 21. En el día 16, se indujeron las bolsas de aire en los animales inyectando 3 ml de aire subcutáneamente en la espalda. En el día 25 las bolsas de aire se re-inflaron con 1,5 ml de aire. Las bolsas se re-inflaron según fue necesario para mantenerlas. En los días 22 (+1), 24 (+3), 26 (+5), 29 (+8), 33 (+12), y 43 (+22) se indujo la inflamación en un grupo de n=5 animales de los brazos de vehículo, aminopterina y metotrexato del estudio por inyección de 1 ml de una suspensión de carragenano como una disolución al 2% en peso/volumen en PBS sin calcio y sin magnesio (los números en los paréntesis indican los días después de la cuarta y última inyección ip bien de vehículo o fármaco). Después de 4 horas, los ratones se sacrificaron, las bolsas se purgaron con 2 ml de PBS y se recogieron los exudados. Se diluyeron alicuotas 1:1 con azul de metileno (0,01% p/v in PBS), y las células se contaron.

Los datos no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre la velocidad de recuperación de la inflamación a los 8, 12 ó 22 días después de la última dosis de antifolato, y revelaron que la duración de la acción tanto de aminopterina como metotrexato era bastante larga, consistente con las largas vidas medias intracelulares de los antifolatos poliglutamados. Este ejemplo muestra que la mayor duración entre la última dosis de un ciclo y la primera dosis del siguiente ciclo puede ser hasta 21 días para aminopterina.

Ejemplo 3: Eficacia en el Modelo de Inflamación de Toxicidad por Oxígeno en la Rata

Para identificar la dosis óptima de aminopterina para tratar displasia broncopulmonar en seres humanos y para cuantificar su potencia respecto a metotrexato, ensayamos aminopterina y metotrexato en un modelo de inflamación por toxicidad de oxígeno murino [Deng, H.; Mason, S. N.; Richard L. Auten, J. Lung inflammation in hyperoxia can be

- 5 prevented by antichemokine treatment in newborn rats. American Journal of Respiratory Critical Care Medicine 2000, 162, 2316-2323].

10 Brevemente, se pusieron ratas fecundadas el mismo día en aire (dos litros) u oxígeno al 95% (un litro) el día del parto después de recombinar camadas entre cuatro hembras recién paridas. Los tamaños de las camadas fueron los mismos. Se introdujeron entonces aminopterina (0,2 mg/kg), metotrexato (0,35 mg/kg) o vehículo por la ruta ip en el día 2 después del nacimiento. Las hembras se rotaron diariamente entre jaulas de aire y oxígeno para evitar toxicidad por oxígeno maternal. En el día 8, las crías se pesaron y se sometieron a eutanasia, las tráqueas se canularon y la arteria pulmonar se perfunde con disolución salina. Se obtuvo entonces fluido de lavado broncoalveolar (BALF) para el recuento celular y análisis de quimioquinas. Los pulmones se retiraron y se congelaron rápidamente para ensayo de actividad mieloperoxidasa (acumulación de neutrófilos en el parénquima pulmonar) y 8-isoprostano, un marcador de oxidación lipídica. La arteria pulmonar se perfundió y los pulmones se fijaron inflados con formalina tamponada a 25 cm H₂O.

20 Como se esperaba, los datos mostraron que la hiperoxia resultó en un influjo marcado de células inflamatorias, comprendido predominantemente por neutrófilos (PMN). Los datos mostraron una reducción estadísticamente significativa en el número de neutrófilos después de solamente una única inyección de 0,2 mg/kg de aminopterina 6 días antes de sacrificar a los animales. Por el contrario, el metotrexato a una dosis 17 veces la de aminopterina (0,35 mg/kg), no redujo el influjo de neutrófilos. La eficacia de aminopterina puede obtenerse usando una única dosis baja. Este ejemplo muestra que la displasia broncopulmonar puede tratarse con un antifolato, y que la obtención de eficacia ocurre a una velocidad mucho más rápida para aminopterina que para metotrexato. Esta dosis es muchas veces menor que la dosis máxima tolerada de aminopterina, que produce mucositis [Ratliff, A.F., et al., Phase I and pharmacokinetic trial of aminopterin in patients with refractory malignancies. J. Clin. Oncol., 1998. 16(4):1458-64].

Ejemplo 4: 2,4-Diamino-6-pteridinametanol (5), sal hidrobromuro

30 Se añadió 2,4,5,6-Tetraaminopirimidina.H₂SO₄.H₂O (75,0 g, 0,293 moles) a una disolución agitada de BaCl₂.2H₂O (71,5 g, 0,293 moles) en H₂O (1,45 l.) a 85-90°C. La mezcla se agitó rápidamente a aproximadamente 90°C durante 15 min, se enfrió hasta 40°C, y se filtró de BaSO₄, que se lavó concienzudamente en un embudo con H₂O. El filtrado amarillo claro se diluyó entonces adicionalmente con H₂O para proporcionar un volumen de 4,35 l. Esta disolución de la tetraaminopirimidina.2HCl se añadió entonces a una disolución de NaOAc (4,35 l. de 4 N) en la que se habían disuelto dihidroxiacetona (79,3 g, 0,88 moles) y cisteína.HCl.H₂O (51,5 g, 0,293 moles). La disolución resultante se agitó mecánicamente a temperatura ambiente mientras se pasaba continuamente una corriente lenta de aire a través de ella durante 26 hr. (El sólido naranja amarillento se empezó a separar después de 2 hr.) La mezcla se mantuvo en una nevera durante 16 hr antes de que el sólido se recogiera, se lavara sucesivamente con H₂O fría, EtOH, y Et₂O antes de secarlo hasta un peso constante en vacío sobre P₂O₅ a 25°C. [La mezcla del producto crudo (47 g) se pesó con el fin de obtener una estimación del volumen de HBr al 48% requerido para formar sales hidrobromuro.] Una mezcla agitada mecánicamente del sólido secado y EtOH (6,05 l.) se calentó hasta 70°C, y una disolución de HBr al 48% (28 ml) en EtOH (490 ml) se añadió en una corriente fina mientras la mezcla se mantenía a 70-75°C. La mezcla se sometió entonces a reflujo durante aproximadamente 5 min con agitación rápida mientras casi todo el sólido se disolvió. La disolución caliente se trató con Norit y se filtró a través de una almohadilla de Celite. El filtrado amarillo claro se mantuvo en una nevera toda la noche mientras una primera cosecha de sólido de color naranja se separó. El sólido recogido se lavó con EtOH, después se secó en vacío (56°C sobre P₂O₅) para proporcionar 17,2 g de producto. El filtrado se concentró por evaporación (evaporador giratorio, aspirador de H₂O, baño a 35°C) hasta aproximadamente 2 l. y después se refrigeró para proporcionar una segunda cosecha, que se secó como anteriormente, de 10,2 g; rendimiento total 27,4 g (34%). El espectro de ¹H RMN de este material en CF₃CO₂D mostró que contenía una cantidad difícilmente detectable de 2,4-diaminopteridina sustituida con metilo.HBr como se puso de manifiesto por señales muy débiles a δ2,83 (CH₃) y δ8,85 (H del anillo de pteridina). Las señales fuertes producidas por el producto deseado ocurrieron a δ5,28 (6-CH₂O) y δ9,08 (C₇-H). La proporción de producto deseado al contaminante sustituido con metilo se estimó a partir de los integrales de ¹H RMN que era 20:1. El espectro de ¹H RMN también reveló la retención de una pequeña cantidad de EtOH en el producto secado como se describe, pero no suficiente como para interferir con su conversión a 2.

Ejemplo 5: 2,4-Diamino-6-Cbromometil)pteridina (2) sal hidrobromuro de (5)

55 Se añadió bromo (59,6 g, 0,373 moles) gota a gota durante un periodo de 30 min a una disolución agitada de trifenilfosfina (97,7 g, 0,373 moles) en 486 ml anhidros de dimetilacetamida (DMAC) mantenido a aproximadamente 10°C (baño de hielo) y protegido de la humedad atmosférica. (El bromo que permaneció en el embudo se lavó con

10 ml de DMAC). Resultó una suspensión regular que contenía dibromuro de trifenilfosfina cristalino finamente dividido. El 2,4-diamino-6-pteridinametanol.HBr (**2**) (25,4 g, 0,093 moles) descrito anteriormente se añadió en una parte a través de un embudo de polvo (con la ayuda de 10 ml de DMAC). El baño de hielo se retiró, y la mezcla agitada se dejó calentar hasta 20-25°C. Después de aproximadamente 1 hr, se había producido la disolución completa. La disolución, que desarrolló gradualmente un color rojo oscuro, se mantuvo a 20-25°C durante 1 hr más y se enfrió entonces (baño de hielo) antes de tratarla con EtOH (72 ml). Después de refrigeración toda la noche, los disolventes se eliminaron por evaporación en vacío. El residuo semisólido oscuro se agitó con dos partes de 300 ml de benceno (para eliminar óxido de trifenilfosfina), y cada parte se eliminó del producto insoluble en benceno por decantación. El sólido que permaneció se disolvió con agitación en AcOH glacial (660 ml) que se había precalentado hasta 80°C. La mezcla se mantuvo en un baño a 80°C hasta que la disolución fue completa. Se separó un sólido cristalino oscuro al permitir que se enfriara la disolución oscura. La refrigeración durante toda la noche causó que el AcOH se congelara parcialmente. Cuando se descongeló, el sólido se recogió, se lavó con AcOH helado seguido de Et₂O, y se secó en vacío (sobre P₂O₅ y gránulos de NaOH) a temperaturas sucesivas de 25°C, 56°C, y 110°C. (La temperatura mayor fue necesaria para la eliminación completa de AcOH). El rendimiento fue 15,3 g (49%). (Algunas operaciones rindieron un 60% de rendimiento). Esta muestra se purificó adicionalmente por re-precipitación de disolución de MeOH (Norit) por la adición de Et₂O seguido de secado en vacío (25°C, P₂O₅), rendimiento 13,0 g (42%) de sólido amarillo claro. Datos espectrales: λ_{máx}, nm (ε x 10⁻³), 0,1 N HCl, 249 (17,3), 339 (10,5), 353 (sh); pH 7, 258 (21,2), 370 (6,87); 0,1 N NaOH, 258 (21,5), 370 (6,94); ¹H RMN (CF₃CO₂D), δ 4,70 (s, 2, CH₂) y δ 9,08 (s, 1, C₇-H); proporción estimada relativa al contaminante sustituido con metilo, 25:1. La preparación de **2** descrita anteriormente es típica de varias operaciones que proporcionaron rendimientos similares de material cuyos espectros de ¹H RMN se diferenciaron sólo ligeramente en la proporción estimada de **2** con respecto al contaminante sustituido con metilo. Las proporciones variaron habitualmente de 16:1 a 25:1, que corresponde a un porcentaje de **2** de 94 a 96%.

Ejemplo 6: 2,4-Diamino-6-(bromometil)pteridina (**2**) sal hidrobromuro de (**1**)

Una suspensión de 5 mmoles de dibromuro de 2,4,5,6-tetraaminopirimidina en 50 ml de metanol se trató con una disolución de 7,5 mmoles de β-bromopiruváldoxima en 10 ml de metanol a temperatura de reflujo durante 2 h. La 2,4-diamino-6-(bromometil)pteridina se recogió después de neutralización con NH₃ concentrado a temperatura ambiente, se lavó con metanol, éter y se secó a 100°C en un horno. ¹H RMN (250 MHz, ppm, DMSO-d₆), δ 8,84 (s, 1H, C₇-H). El rendimiento fue 88%.

Ejemplo 7: Ingrediente farmacéutico activo que contiene aminopterina (**4**)

Una mezcla de **2** (168 mg, 0,500 mmoles) y ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico, compuesto **3** (400 mg, 1,50 mmoles) en DMAC (2 ml) se agitó a 25°C bajo N₂ en un matraz con tapón protegido de la luz. La disolución ocurrió después de 2 hrs. Después de 18 hrs, la disolución naranja se mezcló con H₂O (15 ml) con agitación para proporcionar un precipitado amarillo finamente dividido. La mezcla se centrifugó, y el sobrenadante se retiró por decantación. El sólido amarillo se agitó con cuatro partes de 15 ml de H₂O, cada una de las cuales se eliminó por decantación después de centrifugación. El sólido se suspendió entonces en EtOH (15-20 ml), se recogió por filtración, se lavó con Et₂O, y se secó en vacío (25°C, P₂O₅) para proporcionar **4** hidratado con un rendimiento del 68% (160 mg). Anal. Calcd para C₁₉H₂₀N₈O₅·1,75 H₂O: C, 48,36; H, 5,02; N, 23,74. Encontrado: C, 48,72; H, 4,91; N, 23,36. Datos espectrales: λ_{máx}, nm (ε x 10⁻³), 0,1 N HCl, 244 (18,2), 290 (20,5), 335 (11,0); pH 7, 260 (26,7), 283 (25,5), 370 (8,00); 0,1 N NaOH, 260 (26,9), 283 (25,3), 370 (8,00); ¹HRMN (DMSO-d₆), δ 2,02 (m, 2, CHCH₂CH₂), 2,32 (m, 2, CH₂CO₂H), 4,36 (m, 1, NHCHCO₂H), 4,52 (s, 2, CH₂N), 6,85 (m, 4, 2 protones fenileno más NH₂), 7,72 (m, 2, fenileno), 7,86 (s amplio, 2, NH₂), 8,13 (d, 1, NHCO), 8,72 (s, 1, C₇-H). El examen por tlc reveló una mancha de absorción uv y ausencia de fluorescencia en ningún punto. El producto puede usarse directamente como el ingrediente farmacéutico activo, pero se somete ocasionalmente a una o más re-cristalizaciones de agua o formamida para mejorar la pureza de la aminopterina ligeramente. El ingrediente farmacéutico activo se almacena en presencia de desecante.

Ejemplos 8-13: Análisis del ingrediente farmacéutico activo

Se prepararon tres disoluciones 1 mM diferentes de un primer lote del ingrediente farmacéutico activo preparado según el Ejemplo 59 pesando 2,3 mg, 4,5 mg y 1,8 mg del ingrediente farmacéutico activo como si fueran 100% aminopterina (PF 440,42 g/mol), y disolviéndolo en 5,223 ml, 10,218 ml, y 4,087 ml de 0,001 N NaOH, respectivamente. Veinte µl de cada disolución 1 mM se sometieron a análisis por HPLC mediante la inyección de cada uno en una columna C18 (Waters µBondapak 125 A, 10µm, 3,9x150mm) usando una fase móvil isocrática que consistía en 5 mM PicA, 10 mM NH₄H₂PO₄ y 20% metanol a un pH de 6,8. La velocidad de flujo de la fase móvil fue 1 ml/min, y el análisis se realizó a temperatura ambiente. Usando un espectrofotómetro Waters 996 PDA UV, se capturaron los datos de absorbancia de 210 nm a 400 nm. Los datos se analizaron con el software Waters Millennium mediante la extracción del cromatograma a 282 nm y calculando los porcentajes de las áreas de los picos. Los datos también se analizaron mediante la extracción de los espectros de los picos individuales, permitiendo la identificación de especies de pBAGlu, ácido fólico, aminopterina y pterina por sus espectros característicos.

El promedio de los análisis por HPLC de las tres disoluciones 1 mM separadas reveló que el primer lote de ingrediente farmacéutico activo consistía en aproximadamente 96,27% en área de aminopterina y 3,73% en área de impurezas, en el que las impurezas estaban compuestas por 0,23% en área de ácido fólico, 2,18% en área de ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico (es decir, pABAGlu), y 0,92% en área de una pterina, probablemente 2,4-Diamino-6-(bromometil)pteridina, y 0,4% en área de al menos dos otras impurezas no identificadas (Ejemplo 8, Tabla I). Un análisis por HPLC similar reveló que un segundo lote de ingrediente farmacéutico activo consistía en 97,23% en área de aminopterina y 2,775% en área de impurezas, en el que las impurezas estaban compuestas por 1,82% en área de ácido fólico, 0,556% en área de ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico (es decir, pABAGlu), 0,343% en área de pterina, probablemente 2,4-diamino-6-(bromometil)pteridina), y 0,056% en área de una impureza no identificada (Ejemplo 9, Tabla I). Por comparación, los ingredientes farmacéuticos activos de la técnica anterior contenían aminopterina y cantidades variables de impurezas variando hasta 41% (Ejemplos 10-13, Tabla I).

Ejemplo 14: Composiciones farmacéuticas

Este ejemplo ilustra la preparación de composiciones farmacéuticas sustancialmente libres de impurezas. Tal y como se usa en este ejemplo, "API" significa un ingrediente farmacéutico activo sustancialmente libre de impurezas, en el que el antifolato en el API es aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta. La pureza de la aminopterina del API se usa para establecer cuánto API se requiere en la composición farmacéutica para obtener una cantidad final deseada de aminopterina, o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta, en la composición farmacéutica.

Comprimidos: Depositar en la superficie aminopterina combinando 16,8 gramos de API, 791,0 gramos de celulosa microcristalina, 553,7 gramos de lactosa monohidrato, 1,5 g de NaOH y 632 gramos de agua estéril. Mezclar y secar toda la noche. Añadir 1.311 gramos de esta aminopterina depositada en la superficie a 171 gramos de lactosa, 3,9 gramos de dióxido de silicio coloidal, 46,2 gramos de croscarmelosa de sodio, y 7,7 gramos de estearato de magnesio para proporcionar un peso total de 1.540 gramos. Comprimir en aproximadamente 15.000 comprimidos usando una máquina de formación de comprimidos, en el que cada comprimido pesa aproximadamente 100 mg y contiene aproximadamente 1 mg de aminopterina.

Cápsulas de gelatina: Preparar por mezclado de 0,5 gramos de API con 0,5 gramos de estearato de magnesio, y 99 gramos de lactosa. Dispensar 100 mg de esta mezcla en cápsulas de gelatina de cubierta dura para proporcionar a cada cápsula aproximadamente 0,5 mg de aminopterina.

Suspensión: Se prepara una suspensión acuosa para administración oral de manera que cada 5 ml contienen aproximadamente 2 mg de aminopterina por mezclado de 40 mg de API con 20 gramos de carboximetil celulosa de sodio, 0,5 gramos de benzoato de sodio, 100 gramos de disolución de sorbitol U.S.P., y 2,5 ml de vainilina.

Líquido para inyección o administración oral: Lavar el material de vidrio que se va a usar con 2 M NaOH durante 3-5 minutos y entonces aclarar concienzudamente con agua desionizada. Preparar un primer tampón de disolución salina añadiendo 2,7017 gramos de fosfato de sodio dibásico, USP a 5 litros de cloruro de sodio al 0,9% para inyección, USP. Preparar un segundo tampón de disolución salina añadiendo 1,39 gramos de fosfato de sodio monobásico, USP a 1 litro de cloruro de sodio al 0,9% para inyección, USP. Mientras se agita la primera disolución de tampón de disolución salina, añadir lentamente la segunda disolución de tampón de disolución salina hasta que el pH final es 7,9-8,1. Registrar el volumen final. Añadir suficiente API como para proporcionar 0,4 mg/ml de aminopterina (es decir, 2 mg de aminopterina por 5 ml) y filtrar a través de un filtro de membrana de 0,2 micrómetros y envasar en condiciones estériles en viales de 10 ml conteniendo cada uno 5 ml. Usar en 2 meses.

Inyectable: Se prepara una formulación parenteral por mezclado de 0,200 gramos de API con 20,0 gramos de propileno glicol, 20,0 gramos de polietileno glicol 400, y 1,0 gramo de polisorbato 80. Se añade entonces una cantidad suficiente de disolución salina al 0,9% con agitación para proporcionar 100 ml de disolución que se filtra a través de un filtro de membrana de 0,2 micrómetros y se envasa en condiciones estériles en viales de 2 ml conteniendo cada uno 1 ml, o un total de aproximadamente 2 mg/vial de aminopterina. La disolución se diluye 10 veces con disolución salina al 0,9% antes de la administración a través de una ruta intravenosa.

Ejemplo 15: Media y desviación estándar de dosis en composiciones farmacéuticas

La dosis promedio y uniformidad de la dosis (es decir, desviación estándar) de aminopterina entre 10 comprimidos seleccionados aleatoriamente se determinaron para un lote de 15.000 comprimidos de 1 mg de aminopterina preparados según el Ejemplo 14 (Tabla II). La dosis y uniformidad de la dosis media se obtuvieron por espectrofotometría de barrido y un ensayo de unión de radioligando usando dihidrofolato reductasa (DHFR) como agente de unión y metotrexato como un estándar.

Para la espectrofotometría de barrido, cada uno de los comprimidos se disuelve en 11,35 ml de agua mediante

rotación en un tubo de 15 ml durante 30 minutos a temperatura ambiente para preparar una disolución aproximadamente 200µM (es decir, aproximadamente 1 mg de aminopterina con un PF de 440 g/mol en 11,35 ml). Los tubos se centrifugan, y una parte del sobrenadante se diluye diez veces con 0,1 N NaOH hasta una concentración final de 20 µM. La absorbancia del sobrenadante diluido se lee a 282 nm y 260 nm en un espectrofotómetro de barrido Perkin-Elmer Lambda 4B (1 cm de longitud de paso) y la concentración de la muestra diluida se calcula usando las relaciones, concentración (en µM) a 282 nm = 10 x (DO₂₈₂/0,264) y concentración (en µM) a 260 nm = 10 x (DO₂₆₀/0,285). Los mg/ml a 282 nm y 260 nm se calculan entonces usando la relación, mg/ml = concentración (en µM) x 0,00044. Los mg totales de aminopterina en cada comprimido se determinan entonces multiplicando los mg/ml determinados a 282 nm y 260 nm por 113,5. Los mg de aminopterina por comprimido se reportan entonces como el promedio de los mg de aminopterina en cada comprimido determinados a 282 nm y 260 nm. Por ejemplo, usando el procedimiento anterior, un comprimido de 1 mg de aminopterina rinde una DO₂₈₂ de 0,5227, y una concentración calculada (en µM), mg/ml, y mg totales de aminopterina de 19,8 µM, 0,008712 mg/ml, y 0,9888 mg, respectivamente. Usando el procedimiento anterior, el mismo comprimido de 1 mg de aminopterina rinde una DO₂₆₀ de 0,5641, y una concentración calculada (en µM), mg/ml, y mg totales de aminopterina de 19,8 µM, 0,008712 mg/ml, y 0,9888 mg, respectivamente. La cantidad reportada de aminopterina en el comprimido es la media de la aminopterina total en el comprimido calculada a 282 nm y 260 nm, ó 0,9888 mg.

El ensayo de unión de radioligando se realizó esencialmente como se ha descrito previamente para metotrexato [véase Kamen et al., Anal. Biochem. 70:54, 1976 y Ratliff et al., J Clin. One. 16:1458, 1998]. Brevemente, se desarrolló una curva estándar para 0,2 a 1,0 pmol de unión de metotrexato a DHFR de hígado de pollo parcialmente purificada, en el que la unión de una cantidad conocida de metotrexato no radiactivo resulta en el desplazamiento de una cantidad de metotrexato tritiado (es decir, 3H-metotrexato radiactivo). La aminopterina y el metotrexato son equivalentes en el ensayo en términos de su desplazamiento y unión, y el límite de detección absoluta del ensayo es 0,05 a 0,10 pmoles de antifolato. Después de establecer la curva estándar, una parte del sobrenadante 200 µM preparado anteriormente para un comprimido de aminopterina se diluye adicionalmente 10.000 usando dos diluciones seriadas de 100 veces con agua para proporcionar una disolución aproximadamente 20 nM de aminopterina. El ensayo de DHFR se realiza con 100 µL de la disolución 20 nM, así como varias diluciones seriadas de 2 veces, y el resultado se expresa como pmoles/ml de aminopterina. El número total de pmoles de aminopterina se calcula usando la relación, pmoles/ml x 10.000 x 11,35. El número total de mg en el comprimido se calcula entonces usando la relación, pmoles totales x (10⁶ µmoles/pmol) x 0,44 mg/µmol.

Como se determina por espectrofotometría de barrido, la dosis y la uniformidad de la dosis promedio (es decir, desviación estándar) de aminopterina entre 10 comprimidos seleccionados aleatoriamente de un lote de 15.000 comprimidos de 1 mg de aminopterina fue 0,974 mg y 2,271%, respectivamente (Tabla II). Como se determina por el ensayo de unión de radioligando, la dosis y la uniformidad de la dosis promedio (es decir, desviación estándar) de aminopterina entre los mismos 10 comprimidos fue 1,01 mg y 3,929%, respectivamente (Tabla II).

35 TABLA I

Ejemplo	Pureza de AMT	Impurezas totales de AMT	Composición de impurezas totales
8	96,27%	3,730%	FA (0,23%); pABAGlu (2,18%); pterinas (0,92%); otras (0,4%)
9	97,23%	2,775%	FA (1,82%); pABAGlu (0,556%); pterinas (0,343%); otras (0,056%)
10 ^{*a}	70-80%	20-30%	no especificado
11 ^{*b}	<80%	>20%	FA (20%); otras no especificadas
12 ^{*c}	80%	20%	FA (15%); pterinas (5%)
13 ^{*d}	59%	41%	no especificado

Los porcentajes son áreas de picos de HPLC.

Abreviaturas: FA, ácido fólico; AMT, aminopterina; y pABAOglu, ácido N-(4-aminobenzoil)-L-glutámico.

*No parte de la invención objeto.

^a Seeger, et al., J. Am. Chem. Soc. 71:1753, 1949.

^b Heinrich et al., J. Am. Chem. Soc. 75:5425.

^c Lao, J. Med. Chem. 8:139, 1965.

^d Sirotnak y Donsbach, Blochem. Pharmacol. 24:156, 1975.

TABLA II

<u>Comprimido Aleatorio</u>	<u>dosis de aminopterina por espectrofotometría (mg)</u>	<u>dosis de aminopterina por ensayo de unión de radioligando (mg)</u>
1	0,99	1,03
2	0,98	0,93
3	0,99	1,04
4	0,97	1,04
5	0,94	0,96
6	0,96	1,05
7	0,99	0,99
8	0,94	1,03
9	0,97	1,01
10	1,01	1,03
media	0,974	1,01
desviación estándar	2,271%	3,929%

REIVINDICACIONES

- 5 1. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso en el tratamiento de un trastorno inflamatorio en un paciente seleccionado del grupo que consiste en artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, psoriasis, artritis psoriásica, y displasia broncopulmonar, en el que el patrón de administración del medicamento comprende la etapa de administrar el medicamento a dicho paciente en ciclos ininterrumpidos, de al menos cuatro ciclos, en el que la cantidad de aminopterina proporcionada en cada ciclo está en el intervalo 0,001 a 0,07mg por kilogramo del peso corporal del paciente.
- 10 2. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según la reivindicación 1, en el que la cantidad de aminopterina proporcionada en cada ciclo está en el intervalo 0,005 a 0,03 mg por kilogramo del peso corporal del paciente.
3. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según la reivindicación 1, en el que la cantidad de aminopterina proporcionada en cada ciclo está en el intervalo 0,01 a 0,03 mg por kilogramo del peso corporal del paciente.
- 15 4. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la periodicidad de los ciclos ininterrumpidos es semanal.
5. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, administrada a un paciente durante al menos 12 ciclos.
- 20 6. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, administrada a un paciente durante al menos 24 ciclos.
- 25 7. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el número de dosis de aminopterina en cada ciclo está en el intervalo 1 a 5.
8. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según la reivindicación 7, en el que el número de dosis en cada ciclo es 1 ó 2.
- 30 9. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende la etapa adicional de usar un segundo fármaco en una terapia de combinación.
10. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según la reivindicación 9, en el que el segundo fármaco es ácido fólico.
- 35 11. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, en el que la forma de dosificación de aminopterina empleada es un comprimido que contiene menos de 0,5 mg de aminopterina por comprimido.
12. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un medicamento aminopterina o una sal farmacéuticamente aceptable de ésta para uso según la reivindicación 11, en el que se proporcionan menos de 5 comprimidos en cada ciclo.