

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 741 146**

51 Int. Cl.:

**A61K 33/00** (2006.01)  
**A61K 9/00** (2006.01)  
**A61K 9/06** (2006.01)  
**A61K 9/08** (2006.01)  
**A61K 45/06** (2006.01)  
**A61P 25/00** (2006.01)  
**A61P 25/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.02.2014 PCT/US2014/017432**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **28.08.2014 WO14130691**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.02.2014 E 14754330 (0)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 2958573**

54 Título: **Formulaciones farmacéuticas de nitrio y sus usos**

30 Prioridad:

**20.02.2013 US 201361767017 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**10.02.2020**

73 Titular/es:

**THE BOARD OF SUPERVISORS OF THE  
LOUISIANA STATE UNIVERSITY MECHANICAL  
AND AGRICULTURAL COLLEGE (100.0%)  
3810 W. Lakeshore Drive  
Baton Rouge, Louisiana 70808, US**

72 Inventor/es:

**KEVIL, CHRISTOPHER;  
CHAN, KYLE y  
SOIN, AMOL**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO BLANCO, María Alicia**

**Observaciones:**

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

ES 2 741 146 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

Formulaciones farmacéuticas de nitro y sus usos

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos N° 61/767,017, presentada el 20 de febrero de 2013.

10 **Antecedentes de la invención**

[0002] La presente invención se refiere a un comprimido o cápsula formulado para liberación sostenida de nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  y que consiste en 40 mg de nitrito inorgánico y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para uso en un método de tratar o reducir el dolor neuropático, en el que dicho método consiste en administrar por vía oral a un sujeto que lo necesite, dicho comprimido o cápsula dos veces al día durante un tiempo suficiente para tratar o reducir dicho dolor neuropático, en el que dicho sujeto no tiene una afección asociada con isquemia crónica.

[0003] El óxido nítrico (NO) sirve como un neurotransmisor entre las células nerviosas y tiene un papel general en la señalización redox. A diferencia de la mayoría de los otros neurotransmisores que solo transmiten información de una neurona presináptica a una neurona postsináptica, la molécula de óxido nítrico pequeña, no cargada y soluble en grasa puede difundirse ampliamente y fácilmente entre las células. Por lo tanto, puede actuar sobre varias neuronas cercanas, incluso sobre aquellas que no están conectadas por una sinapsis. Al mismo tiempo, la corta vida media de NO significa que dicha acción se limitará a un área limitada, sin la necesidad de descomposición enzimática o recaptación celular. El NO también es altamente reactivo con otros radicales libres, lípidos y proteínas. La cascada NO-cGMP está involucrada en el aprendizaje y la memoria a través del mantenimiento de la potenciación a largo plazo (LTP). Por lo tanto, el NO es un importante regulador y mediador de muchos procesos en el cerebro y un equilibrio en los niveles de NO es fundamental para mantener una señalización saludable y el desarrollo del cerebro, y/o mantener un equilibrio en el estado psicológico.

[0004] El papel de NO también ha sido implicado en el dolor, sin embargo no está claro en cuanto a si la inhibición de NO o la producción de NO es beneficioso en el tratamiento del dolor. En algunos estudios, se ha propuesto que varias vías relacionadas con el dolor se benefician de la producción de NO. En particular, la vía del flujo sanguíneo, que se normaliza en presencia de NO, puede ayudar a disminuir el dolor isquémico; la vía de transmisión nerviosa, que disminuye la irritación de los nervios en el sinovio, los huesos y los tejidos blandos; la vía del receptor de opioides, que podría estimular las vías normales de reducción del dolor del cuerpo; y la vía antiinflamatoria. Otros estudios propusieron que la inhibición de NO es beneficiosa en el tratamiento del dolor. En estos estudios, se cree que el NO está involucrado en la activación de la ciclooxigenasa 1 (COX-1) y la regulación de la expresión de la ciclooxigenasa 2 (COX-2) en las respuestas inflamatorias para aumentar la liberación de prostaglandinas, induciendo así la hiperalgesia periférica y la inflamación. El NO generado por la activación de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) se ha relacionado con la plasticidad sináptica y muchos de estos mecanismos están involucrados en la sensibilización central, un problema común en el dolor crónico. Ciertos estudios también han sugerido que el NO media los efectos anti-nociceptivos centrales y periféricos de los compuestos analgésicos, como los opioides y los fármacos antiinflamatorios no esteroideos.

[0005] Por consiguiente, existe una necesidad continua de comprender las funciones biológicas de NO e investigar estrategias terapéuticas que proporcionen una fuente de NO para mantener las funciones cerebrales normales y para el tratamiento y/o la reducción del dolor.

[0006] El documento WO 2009/065142 A2 describe el uso de sales de nitrito en isquemia crónica, métodos y composiciones útiles para el tratamiento de isquemia tisular crónica, y más particularmente a métodos para inducir el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos en tejido isquémico.

[0007] El documento US 2005/113409 A1 describe métodos y composiciones para prevenir o tratar el dolor, la inflamación y los trastornos relacionados con la inflamación, y más particularmente para métodos y composiciones relacionados con una combinación de un inhibidor de la ciclooxigenasa-2 en combinación con otro fármaco.

[0008] El documento WO 2012/052561 A2 describe dispositivos, métodos y sistemas para generar gas de óxido nítrico y el uso de dispositivos de administración no implantables para la administración de gas de óxido nítrico (NO) esencialmente puro para prevenir, tratar o aumentar las prevenciones o tratamientos para afecciones que incluyen dolor, heridas, infecciones, alteraciones circulatorias y enfermedades cardiovasculares.

[0009] Una publicación de Frank L. Greenway et al. (Single-Dose Pharmacokinetics of Different Oral Sodium Nitrite Formulations in Diabetes Patients", DIABETIS TECHNOLOGY & THERAPEUTICS, vol. 14, n° 7, páginas 552 - 560) demuestra que la administración oral de nitrito de sodio es bien tolerada en pacientes con diabetes.

**[0010]** US 2012/237617 A1 describe el uso de sales de nitrito en el tratamiento de daño tisular.

**[0011]** US 2011/086069 A1 describe composiciones farmacéuticas de nitritos y el uso médico de esta composición, en particular su uso en isquemia tisular crónica.

5

### Resumen de la invención

**[0012]** La presente invención se refiere a un comprimido o cápsula formulado para liberación sostenida de nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  y que consiste en 40 mg de nitrito inorgánico y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para uso en un método de tratar o reducir el dolor neuropático, en el que dicho método consiste en administración oral a un sujeto que lo necesite de dicho comprimido o cápsula dos veces al día durante un tiempo suficiente para tratar o reducir dicho dolor neuropático, en el que dicho sujeto no tiene una afección asociada con isquemia crónica.

**[0013]** En una realización preferida, la invención presenta un comprimido o cápsula para uso en un método de tratamiento o reducción de la neuropatía diabética periférica, en donde dicho método incluye administrar al sujeto la tableta o cápsula como se describe anteriormente.

**[0014]** En ciertas realizaciones, la invención incluye además la vigilancia de si el sujeto experimenta dolor reducido, en el que una reducción del dolor se mide como una disminución en la intensidad del dolor, frecuencia, duración, y/o mejoras en la calidad de vida.

**[0015]** En algunas realizaciones, el sujeto tiene diabetes tipo 1 o tipo 2.

**[0016]** El dolor crónico se asocia con dolor de espalda inferior, artritis, dolor de cabeza, esclerosis múltiple, fibromialgia, tejas, daño a los nervios, o cáncer. El dolor puede ser dolor neuropático, dolor inflamatorio, dolor nociceptivo, dolor funcional, dolor musculoesquelético o dolor del sistema nervioso central. En ciertas realizaciones, el dolor neuropático es neuropatía periférica diabética, neuralgia posherpética, neuralgia del trigémino, dolor del miembro fantasma, síndrome del túnel carpiano, ciática, neuralgia pudenda, síndrome de dolor regional complejo, polineuropatía sensorial, mono-neuropatías o síndrome de dolor central. En una realización preferida, el dolor es neuropatía periférica diabética.

**[0017]** En ciertas realizaciones no reivindicadas-, el comprimido o la cápsula de la invención puede usarse en un método de tratamiento de un trastorno del estado de ánimo o un trastorno del desarrollo del cerebro, incluyendo el método administrar a un sujeto en necesidad del mismo una composición farmacéutica que incluye una cantidad efectiva de nitrito inorgánico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

**[0018]** En algunas realizaciones, el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en: trastornos depresivos mayores, trastornos depresivos, trastornos bipolares, trastornos del estado de ánimo inducido por sustancias, trastornos del estado de ánimo inducido por alcohol, y trastornos del estado de ánimo inducidos por benzodiazepina. En otras realizaciones, el trastorno del desarrollo cerebral se selecciona del grupo que consiste en: deterioro del aprendizaje y la memoria, trastorno autista, síndrome de Rett, trastorno desintegrativo infantil, trastorno generalizado del desarrollo – no especificado de otro modo (PDD-NOS) y síndrome de Asperger.

**[0019]** El comprimido o cápsula consiste en 40 mg de nitrito inorgánico, en el que el nitrito inorgánico es de  $\text{NaNO}_2$ , o  $\text{KNO}_2$  y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. En realizaciones preferidas, el nitrito inorgánico es de  $\text{NaNO}_2$ . En algunas realizaciones, la tableta o cápsula se administra con un segundo agente, en donde el segundo agente se selecciona del grupo que consiste en: un medicamento antiinflamatorio no esteroideo (NTHE), un corticosteroide, paracetamol, un opioide, un relajante muscular, un medicamento contra la ansiedad, un antidepresivo, un fármaco anticonvulsivo, un antipsicótico, un fármaco antiepiléptico, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la norepinefrina y un estabilizador del estado de ánimo.

**[0020]** En una realización, el comprimido o la cápsula se administra durante al menos dos a veinte días. En una realización, la administración se produce durante al menos dos días, al menos tres días, al menos cuatro días, al menos cinco días, al menos seis días, al menos siete días, al menos diez días o al menos quince días. En una realización, la dosis es de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1000  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; aproximadamente 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; aproximadamente 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 250  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; aproximadamente 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 100  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; o aproximadamente 0,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a aproximadamente 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . En una realización preferida, la dosis es de aproximadamente 165  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; unos 16,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ; o alrededor de 8,25  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

**[0021]** En cualquiera de las realizaciones anteriores, la tableta o cápsula incluye un excipiente farmacéuticamente aceptable para la liberación retardada del nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$ , o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, de tal manera que, cuando se administra por vía oral a un sujeto, el nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo no se libera sustancialmente en el estómago del sujeto.

65

5 **[0022]** Por "dolor crónico" se entiende un dolor que dura más de tres a seis meses o un dolor que se extiende más allá del periodo esperado de curación. El dolor crónico puede originarse con un trauma/lesión o infección inicial, o puede ser una causa continua de dolor asociado con dolor neuropático (p. ej., neuropatía periférica diabética, neuralgia posherpética, neuralgia del trigémino, dolor del miembro fantasma, síndrome del túnel carpiano, ciática, neuralgia pudenda, síndrome de dolor regional complejo, polineuropatías sensoriales, mono-neuropatías o síndrome de dolor central), dolores de cabeza, dolor en las articulaciones, dolores de espalda, dolor de senos, dolor muscular, dolor de nervios y dolor que afecta partes específicas del cuerpo, como hombros, pelvis, y cuello. El dolor crónico también puede estar asociado con dolor en la parte inferior de la espalda, artritis, dolor de cabeza, esclerosis múltiple, fibromialgia, culebrilla, daño a los nervios o cáncer.

15 **[0023]** Tal como se utiliza aquí, el término "liberación retardada" se refiere a una preparación farmacéutica, por ejemplo, una formulación administrada por vía oral, que pasa a través del estómago sustancialmente intacto y se disuelve en el intestino y/o el intestino grueso (por ejemplo, el colon). En algunas realizaciones, la liberación retardada del agente activo (por ejemplo, nitrito como se describe aquí) resulta del uso de un recubrimiento entérico de un medicamento oral (por ejemplo, una forma de dosificación oral). El término "cantidad efectiva" de un agente, como se usa en este documento, es esa cantidad suficiente para producir efectos beneficiosos o resultados deseados, tales como resultados clínicos, y, como tal, una "cantidad efectiva" depende del contexto en el que se está aplicando.

20 **[0024]** Los términos "liberación prolongada" o "liberación sostenida" se refieren indistintamente a una formulación de fármaco que proporciona la liberación gradual de un fármaco durante un período prolongado de tiempo, por ejemplo, 6-12 horas o más, en comparación con una formulación de liberación inmediata de la misma droga. Preferiblemente, aunque no necesariamente, da como resultado niveles en sangre sustancialmente constantes de un medicamento durante un período de tiempo prolongado que se encuentra dentro de los niveles terapéuticos y se encuentra dentro de un rango de concentración plasmática máxima que se encuentra entre, por ejemplo, 0,05-10  $\mu\text{m}$ , 0,1-10  $\mu\text{m}$ , 0,1-5,0  $\mu\text{m}$ , o 0,1-1  $\mu\text{m}$ .

30 **[0025]** Como se usa en el presente documento, los términos "formulados para liberación entérica" y "formulación entérica" se refieren a composiciones farmacéuticas, por ejemplo, formas de dosificación oral, para administración oral en condiciones de proporcionar protección contra la disolución en el entorno de alto grado de ácido (pH bajo) del estómago. Las formulaciones entéricas se pueden obtener, por ejemplo, incorporando en la composición farmacéutica un polímero resistente a la disolución en jugos gástricos. En algunas realizaciones, los polímeros tienen un pH óptimo para la disolución en el intervalo de aproximadamente 5,0 a 7,0 ("polímeros sensibles al pH"). Ejemplos de polímeros incluyen copolímeros de ácido metacrilato que son conocidos por el nombre comercial Eudragit® (por ejemplo, Eudragit® L100.

40 **[0026]** Eudragit® S100, Eudragit® L-30D, Eudragit® FS 30D, y Eudragit® L100-55), acetato de celulosa ftalato, acetato de celulosa trimelitado, acetato de polivinilo ftalato (por ejemplo, Coateric®), ftalato de hidroxietilcelulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, o laca, o una dispersión acuosa de los mismos. Las dispersiones acuosas de estos polímeros incluyen dispersiones de acetato ftalato de celulosa (Aquateric®) o laca (por ejemplo, MarCoat 125 y 125N). Una formulación entérica reduce el porcentaje de la dosis administrada liberada en el estómago en al menos 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o incluso 98% en comparación con una formulación de liberación inmediata. Cuando un polímero de este tipo recubre una tableta o cápsula, este recubrimiento también se conoce como un "recubrimiento entérico".

50 **[0027]** El término "composición farmacéutica", como se usa en este documento, representa una composición que contiene un compuesto descrito en el presente documento (por ejemplo, nitrito inorgánico, o cualquier sal farmacéuticamente aceptable, solvato, o profármaco del mismo), formulado con un excipiente farmacéuticamente aceptable, y típicamente fabricado o vendido con la aprobación de una agencia reguladora gubernamental como parte de un régimen terapéutico para el tratamiento de la enfermedad en un mamífero. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse, por ejemplo, para administración oral en forma de dosis unitaria (por ejemplo, una tableta, cápsula, comprimido, cápsula de gel o jarabe); para administración tópica (por ejemplo, como crema, gel, loción o pomada); para administración intravenosa (por ejemplo, como una solución estéril libre de émbolos particulados y en un sistema solvente adecuado para uso intravenoso); o en cualquier otra formulación descrita en el presente documento.

60 **[0028]** Un "excipiente farmacéuticamente aceptable", como se usa aquí, se refiere cualquier ingrediente distinto de los compuestos descritos en el presente documento (por ejemplo, un vehículo capaz de suspender o disolver el compuesto activo) y que tiene las propiedades de ser no tóxicos y no inflamatorios en un paciente. Los excipientes pueden incluir, por ejemplo: antiadherentes, antioxidantes, aglutinantes, recubrimientos, auxiliares de compresión, desintegrantes, tintes (colores), emolientes, emulsionantes, rellenos (diluyentes), formadores o recubrimientos de películas, sabores, fragancias, deslizantes (mejoradores de flujo), lubricantes, conservantes, tintas de impresión, sorbentes, agentes de suspensión o dispersión, edulcorantes o aguas de hidratación. Entre los ejemplos de excipientes se incluyen: hidroxitolueno butilado (BHT), carbonato de calcio, fosfato de calcio (dibásico), estearato de calcio, croscarmelosa, polivinilpirrolidona reticulada, ácido cítrico, crospovidona, cisteína, etilcelulosa, gelatina, hidroxipropilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, lactosa, estearato de magnesio, maltitol, maltosa, manitol, metionina, metilcelulosa, metilparabeno, celulosa microcristalina, polietilenglicol, polivinilpirrolidona, povidona, almidón

pregelatinizado, propilparabeno, palmitato de retinilo, laca, dióxido de silicio, carboximetilcelulosa de sodio, citrato de sodio, glicolato de almidón de sodio, sorbitol, almidón (maíz), ácido esteárico, ácido esteárico, sacarosa, talco, dióxido de titanio, vitamina A, vitamina E, vitamina C y xilitol.

5 **[0029]** El término "profármacos farmacéuticamente aceptables" como se utiliza aquí, representa aquellos profármacos de los compuestos de la presente invención que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, proporcional a una relación razonable de beneficio/riesgo, y eficaz para el uso previsto, así como las formas zwitteriónicas, cuando sea posible, de los compuestos de la invención.

10 **[0030]** El término "sal farmacéuticamente aceptable", como uso en el presente documento, representa aquellas sales que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y son proporcionales con una relación razonable de beneficio/riesgo. Las sales farmacéuticamente aceptables se describen en: Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66: 1-19, 1977 y en Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use (Eds. PH Stahl y CG Wermuth), Wiley-VCH, 2008. Las sales se pueden preparar *in situ* durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos de la invención o por separado haciendo reaccionar el grupo de base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Entre las sales de adición de ácidos representativas se incluyen acetato, adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, canforsulfonato, citrato, bromhidrato, clorhidrato, hidroyoduro, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluensulfonato, undecanoato, sales de valerato. Las sales representativas de metales alcalinos o alcalinotérreos incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, así como amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina, incluyendo amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, etc.

25 **[0031]** Los términos "solvato farmacéuticamente aceptable" o "solvato", como se usa aquí, significa un compuesto de la invención en la que las moléculas de un disolvente adecuado se incorporan en la red cristalina. Un disolvente adecuado es fisiológicamente tolerable a la dosis administrada. Por ejemplo, los solvatos se pueden preparar por cristalización, recristalización o precipitación a partir de una solución que incluye solventes orgánicos, agua o una mezcla de los mismos. Ejemplos de disolventes adecuados son etanol, agua (por ejemplo, monohidratos, dihidratos y trihidratos), *N*-metilpirrolidinona (NMP), dimetilsulfóxido (DMSO), *N,N'*-dimetilformamida (DMF), *N,N'*-dimetilacetamida (DMAC), 1,3-dimetil-2-imidazolidinona (DMEU), 1,3-dimetilo-3,4,5,6-tetrahidro-2-(1H)-pirimidinona (DMPU), acetonitrilo (ACN), propilenglicol, acetato de etilo, alcohol bencílico, 2-pirrolidona, benzoato de bencilo. Cuando el solvente es agua, el solvato se denomina "hidrato".

30 **[0032]** El término "reducir", como se usa aquí, se refiere a tratamiento que alivia uno o más síntomas o condiciones de una enfermedad, trastorno, o condiciones descritas en este documento (por ejemplo, dolor). El tratamiento puede iniciarse, por ejemplo, siguiendo ("profilaxis posterior a la exposición") un evento que precede a la aparición de la enfermedad, trastorno o afecciones en un sujeto que ha sido predispuesto o previamente diagnosticado con la enfermedad o afección. El tratamiento que incluye la administración de un compuesto, o una composición farmacéutica del mismo, puede ser agudo, a corto plazo o crónico. Las dosis administradas pueden variar durante el curso del tratamiento.

45 **[0033]** Por "mejora en el estado de ánimo o estado psicológico" se entiende un cambio positivo en el estado emocional de un sujeto.

50 **[0034]** Por "modula la función cerebral" se pretende regular o ajustar los niveles de NO en el cerebro de tal manera que haya señalización homeostática que se produce en el cerebro.

55 **[0035]** Por "predisposición o diagnóstico" se entiende una población de sujetos (por ejemplo, mamíferos, incluidos humanos y no humanos) que ha sido preseleccionada con una condición asociada con dolor, un trastorno del estado de ánimo y/o un desequilibrio en estado psicológico, o un trastorno del desarrollo cerebral. Las afecciones asociadas con el dolor incluyen: dolor musculoesquelético (después de un traumatismo, infecciones), dolor neuropático causado por diabetes, trastornos metabólicos, exposición a toxinas, lesión traumática, lesión de la médula espinal, tumores, compresión, inflamación, dolor dental, dolor episiotómico, dolor profundo y visceral (p. ej., dolor cardíaco, dolor vesical o pélvico), dolor muscular, dolor ocular, dolor orofacial (p. ej., odontalgia, neuralgia del trigémino, neuralgia glossofaríngea), dolor abdominal, dolor ginecológico (p. ej., dismenorrea) y dolor de parto), dolor asociado con daño en los nervios y raíces debido a traumatismo, compresión, inflamación, sustancias químicas tóxicas, trastornos metabólicos, afecciones hereditarias, infecciones, vasculitis y enfermedades autoinmunes, dolor en el sistema nervioso central, como dolor debido a la médula espinal o tronco cerebral, accidentes cerebrovasculares, tumores, infecciones, enfermedades desmielinizantes, incluyendo esclerosis múltiple, dolor lumbar, ciática y dolor postoperatorio. Los trastornos del estado de ánimo incluyen: trastornos depresivos mayores, trastornos depresivos, trastornos bipolares, trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias, trastornos del estado de ánimo inducidos por el alcohol y trastornos del estado de ánimo inducidos por la benzodiazepina. Los trastornos del desarrollo

cerebral incluyen: deterioro del aprendizaje y la memoria, trastorno autista, síndrome de Rett, trastorno desintegrativo infantil, trastorno generalizado del desarrollo (no especificado de otro modo (PDD-NOS) y síndrome de Asperger.

**[0036]** El término "profármaco", como se usa en este documento, representa compuestos que se transforman rápidamente *in vivo* en el compuesto parental de la fórmula anterior. Los profármacos también abarcan compuestos bioequivalentes que, cuando se administran a un ser humano, conducen a la formación *in vivo* de ion nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) u óxido nitroso (NO). Se proporciona una discusión exhaustiva en T. Higuchi y V. Stella, Pro-drugs as Novel Delivery Systems, vol. 14 de la A.C.S. Symposium Series, y Edward B. Roche, ed., Bioreversible Carriers in Drug Design, American Pharmaceutical Association y Pergamon Press, 1987. Preferiblemente, los profármacos de los compuestos de la presente invención son farmacéuticamente aceptables, como los descritos en EP 1336602A1.

**[0037]** Como se usa en el presente documento, y como bien entendido en la técnica, "tratamiento" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados, como los resultados clínicos. Los resultados beneficiosos o deseados pueden incluir el alivio o la mejora de uno o más síntomas o afecciones; disminución de la extensión de la enfermedad, trastorno o afección; estado de enfermedad, trastorno o condición estabilizada (es decir, que no empeora); prevención de la propagación de enfermedades, trastornos o afecciones; retrasar o ralentizar el progreso de la enfermedad, trastorno o afección; mejora o paliación de la enfermedad, trastorno o afección; y remisión (ya sea parcial o total), ya sea detectable o no detectable. "Tratamiento" también puede significar prolongar la supervivencia en comparación con la supervivencia esperada si no se recibe tratamiento. Tal como se usa en el presente documento, los términos "tratar" y "tratamiento" también pueden referirse a retrasar la aparición, retrasar o revertir el progreso o aliviar la enfermedad o afección a la que se aplica el término, o uno o más síntomas de dicha enfermedad o condición.

**[0038]** El término "formas de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con cualquier excipiente farmacéutico adecuado o excipientes.

**[0039]** Tal como se utiliza aquí, el término "concentración en plasma" se refiere a la cantidad de ion nitrito presente en el plasma de un sujeto tratado (por ejemplo, como se mide en un conejo utilizando un ensayo descrito a continuación o en un ser humano).

**[0040]** Por "aproximadamente" se entiende un  $\pm 20\%$  del valor recitado.

**[0041]** Otras características y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada, dibujos, y las reivindicaciones.

### Breve descripción de los dibujos

**[0042]**

Las Figuras 1A-1B muestran los resultados del cuestionario RAND 36. La Figura 1A muestra los resultados de la evaluación de la calidad de vida física en el grupo de placebo, 40 mg y 80 mg. La Figura 1B muestra los resultados de la evaluación de la calidad de vida psicológica en el grupo de placebo, 40 mg y 80 mg.

Las Figuras 2A-2B muestran los resultados de la WIQ. La Figura 2A muestra los resultados de la WIQ en la población FAS. La Figura 2B muestra los resultados de la WIQ en la población diabética.

### Descripción detallada

**[0043]** La presente invención caracteriza un comprimido o cápsula formulado para liberación sostenida de nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  y que consiste en 40 mg de nitrito inorgánico y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para uso en un método de tratamiento o reducir el dolor neuropático, en donde dicho método consiste en administrar por vía oral a un sujeto que lo necesite, dicho comprimido o cápsula dos veces al día durante un tiempo suficiente para tratar o reducir dicho dolor neuropático, en el que dicho sujeto no tiene una condición asociada con la isquemia crónica.

### Nitrito

#### *Nitrito inorganico*

**[0044]** Las composiciones farmacéuticamente aceptables pueden incluir nitrito inorgánico, por ejemplo, una sal o éster de ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Las sales de nitrito pueden incluir, sin limitación, sales de metales alcalinos, por ejemplo, sodio, potasio; sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, calcio, magnesio y bario; y sales de bases orgánicas, por ejemplo, bases de aminas y bases inorgánicas. Los compuestos de la invención también incluyen todos los isótopos de los átomos que aparecen en los compuestos intermedios o finales. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números de masa. Por ejemplo, los isótopos de hidrógeno incluyen tritio y deuterio. El término "compuesto", como se usa en el presente

documento con respecto a cualquier nitrito inorgánico o sal, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo. Todos los compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, también pretenden incluir formas solvatadas (por ejemplo, hidratadas). Nitrito tiene la fórmula química  $\text{NO}_2^-$  y puede existir como un ion en agua. El nitrito de sodio tiene la fórmula química  $\text{NaNO}_2$  y generalmente se disuelve en agua para formar el ion sodio  $\text{Na}^+$  y el ion nitrito  $\text{NO}_2^-$ . Además, se entenderá que la presente invención abarca todas estas formas solvatadas (por ejemplo, hidratos) de los compuestos de nitrito. Los compuestos de nitrito ejemplares se describen en el documento WO 2008/105730.

**[0045]** Además de nitrito de sodio, compuestos de nitrito inorgánico representativos incluyen: nitrito de amonio ( $\text{NH}_4\text{NO}_2$ ), nitrito de bario ( $\text{Ba}(\text{NO}_2)_2$ ; por ejemplo, nitrito de bario anhidro o bario monohidrato de nitrito), nitrito de calcio ( $\text{Ca}(\text{NO}_2)_2$ ; por ejemplo, nitrito de calcio anhidro o nitrito de calcio monohidrato), nitrito de cesio ( $\text{CsNO}_2$ ), nitrito de cobalto (II) ( $\text{Co}(\text{NO}_2)_2$ ), nitrito de cobalto (III) potasio ( $\text{CoK}_3(\text{NO}_2)_6$ , por ejemplo, cobalto (III) nitrito de potasio sesquihidrato), nitrito de litio ( $\text{LiNO}_2$ ; por ejemplo, anhidro nitrito de litio o monohidrato nitrito de litio), nitrito de magnesio ( $\text{MgNO}_2$ ; por ejemplo, trihidrato de nitrito de magnesio), nitrito de potasio ( $\text{KNO}_2$ ), nitrito de rubidio ( $\text{RbNO}_2$ ), nitrito de plata (I) ( $\text{AgNO}_2$ ), nitrito de estroncio ( $\text{Sr}(\text{NO}_2)_2$ ) y nitrito de zinc ( $\text{Zn}(\text{NO}_2)_2$ ).

**[0046]** Los compuestos de la presente invención se pueden preparar en una variedad de formas conocidas para una persona de experiencia ordinaria en la técnica de la síntesis química. Los métodos para preparar sales de nitrito son bien conocidos en la técnica y una amplia gama de precursores y sales de nitrito están disponibles comercialmente. Los nitritos de metales alcalinos y alcalinotérreos se pueden sintetizar haciendo reaccionar una mezcla de monóxido de nitrógeno ( $\text{NO}$ ) y dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ ) con una solución de hidróxido de metal correspondiente, así como a través de la descomposición térmica del nitrato correspondiente. Otros nitritos están disponibles a través de la reducción de los nitratos correspondientes.

**[0047]** Los presentes compuestos se pueden preparar a partir de materiales de partida fácilmente disponibles usando los métodos y procedimientos conocidos en la técnica. Se apreciará que cuando se proporcionan condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, disolventes, presiones), también se pueden usar otras condiciones de proceso a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactivos particulares o el solvente utilizado, pero tales condiciones pueden ser determinadas por un experto en la técnica mediante procedimientos de optimización de rutina.

**[0048]** Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen, por ejemplo, nitrito de sodio, nitrito de potasio, o nitrito de calcio. Otras sales ejemplares se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17<sup>a</sup> ed., Mack Publishing Company, Easton, Pensilvania, 1985, pág. 1418, Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences 66: 1-19, 1977 y Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use., (Eds. PH Stahl y CG Wermuth), Wiley-VCH, 2008.

### Composiciones farmacéuticas

**[0049]** Cuando se emplean como productos farmacéuticos, nitrito inorgánico, por ejemplo, una sal de ácido nitroso ( $\text{HNO}_2$ ) tales como de  $\text{NaNO}_2$ , o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato o profármaco del mismo se puede administrar en forma de composiciones farmacéuticas. Estas composiciones pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica, y pueden administrarse por una variedad de rutas, dependiendo de si se desea un tratamiento local o sistémico y de la zona a tratar. La administración puede ser tópica, parenteral, intravenosa, intraarterial, subcutánea, intramuscular, intracraneal, intraorbital, oftálmica, intraventricular, intracapsular, intraespinal, intracisternal, intraperitoneal, intranasal, aerosol, supositorios o administración oral. En una realización, el nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  se administra en una composición farmacéutica enseñada en la solicitud de patente de EE.UU. n° 12/904.791.

**[0050]** Una composición farmacéutica puede contener uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Al preparar una composición farmacéutica, el nitrito inorgánico, la sal farmacéuticamente aceptable, el solvato o el profármaco del mismo se mezclan típicamente con un excipiente, se diluyen con un excipiente o se encierran dentro de dicho vehículo en forma de, por ejemplo, una cápsula, sobre, papel, u otro recipiente. Cuando el excipiente sirve como diluyente, puede ser un material sólido, semisólido o líquido (por ejemplo, solución salina normal), que actúa como vehículo, portador o medio para el ingrediente activo. Por lo tanto, las composiciones pueden estar en forma de tabletas, polvos, pastillas, bolsitas, sellos, elixires, suspensiones, emulsiones, soluciones, jarabes y cápsulas de gelatina blanda y dura. Como se conoce en la técnica, el tipo de diluyente puede variar dependiendo de la vía de administración prevista. Las composiciones resultantes pueden incluir agentes adicionales, tales como conservantes.

**[0051]** Los agentes terapéuticos se pueden administrar solos, o en una mezcla, en presencia de un excipiente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El excipiente o portador se selecciona en función del modo y la vía de administración. Los portadores farmacéuticos adecuados, así como las necesidades farmacéuticas para el uso en formulaciones farmacéuticas, se describen en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21<sup>a</sup> edición, Gennaro, ed., Lippencott Williams & Wilkins (2005), un texto de referencia bien conocido en este campo, y en la USP/NF (United States Pharmacopeia and the National Formulary). Ejemplos de excipientes adecuados son lactosa, dextrosa, sacarosa, sorbitol, manitol, almidones, goma arábiga, fosfato de calcio, alginatos, tragacanto, gelatina, silicato de calcio, celulosa microcristalina, polivinilpirrolidona, celulosa, agua, jarabe y metilcelulosa. Las formulaciones pueden incluir adicionalmente: agentes lubricantes tales como talco, estearato de magnesio y aceite mineral; agentes

humectantes; agentes emulsificantes y suspensores; agentes conservantes tales como metil- y propilhidroxi-benzoatos; agentes edulcorantes; y agentes aromatizantes. Otros excipientes ejemplares se describen en Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6ª Edición, Rowe et al., Eds., Pharmaceutical Press (2009).

5 **[0052]** La composición farmacéutica puede incluir sales de nitrato, o profármacos de las mismas, u otros agentes terapéuticos. Las sales de nitrato ejemplares se describen en el documento WO 2008/105730. Los agentes terapéuticos ejemplares que pueden incluirse en las composiciones descritas en este documento se proporcionan en el presente documento.

10 **[0053]** Las composiciones farmacéuticas pueden formularse a fin de proporcionar liberación inmediata, extendida o retardada del ingrediente activo tras la administración al paciente empleando procedimientos conocidos en la técnica.

**[0054]** Las composiciones se pueden formular en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosis, por ejemplo, 0,1-500 mg de ingrediente activo. Por ejemplo, las dosis pueden contener de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 40 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 0,2 mg a aproximadamente 20 mg mg, de aproximadamente 0,3 mg a aproximadamente 15 mg, de aproximadamente 0,4 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 1 mg; de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 mg; de aproximadamente 1 mg de a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 30 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 10 mg, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 mg; de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 50 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 20 mg, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 10 mg; de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 200 mg, de aproximadamente 30 mg a aproximadamente 150 mg, de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 100 mg, de aproximadamente 40 mg a aproximadamente 80 mg del ingrediente activo, o de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 80 mg del ingrediente activo. Para preparar composiciones sólidas tales como tabletas, el ingrediente activo principal se mezcla con uno o más excipientes farmacéuticos para formar una composición de formulación sólida a granel que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente invención. Cuando se hace referencia a estas composiciones de formulación en masa como homogéneas, el ingrediente activo se dispersa generalmente de manera uniforme en toda la composición, de modo que la composición se puede subdividir fácilmente en formas de dosificación unitaria igualmente efectivas, como tabletas y cápsulas. Esta formulación en masa sólida se subdivide luego en formas de dosificación unitaria del tipo descrito anteriormente.

#### *Composiciones para la administración oral*

40 **[0055]** Las composiciones farmacéuticas incluyen las formuladas para la administración oral ("formas de dosificación oral"). Las formas de dosificación oral pueden ser, por ejemplo, en forma de tabletas, cápsulas, una solución o suspensión líquida, un polvo o cristales líquidos o sólidos, que contienen el (los) ingrediente(s) activo(s) en una mezcla con productos farmacéuticos no tóxicos. excipientes aceptables. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes o cargas inertes (p. ej., sacarosa, sorbitol, azúcar, manitol, celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de papa, carbonato de calcio, cloruro de sodio, lactosa, fosfato de calcio, sulfato de calcio o fosfato de sodio); agentes de granulación y desintegración (por ejemplo, derivados de celulosa que incluyen celulosa microcristalina, almidones que incluyen almidón de patata, croscarmelosa sódica, alginatos o ácido algínico); agentes ligantes (p. ej., sacarosa, glucosa, sorbitol, acacia, ácido algínico, alginato de sodio, gelatina, almidón, almidón pregelatinizado, celulosa microcristalina, silicato de magnesio y aluminio, carboximetilcelulosa sódica); y agentes lubricantes, deslizantes y antiadhesivos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato de zinc, ácido esteárico, sílices, aceites vegetales hidrogenados o talco). Otros excipientes farmacéuticamente aceptables pueden ser colorantes, agentes aromatizantes, plastificantes, humectantes, agentes tamponantes.

55 **[0056]** Las formulaciones para administración oral también pueden presentarse como comprimidos masticables, como cápsulas de gelatina dura en las que el ingrediente activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, almidón de patata, lactosa, celulosa microcristalina, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín) o como cápsulas de gelatina blanda en las que el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio de aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva. Los polvos, granulados y gránulos pueden prepararse usando los ingredientes mencionados anteriormente en tabletas y cápsulas de una manera convencional usando, por ejemplo, un mezclador, un aparato de lecho fluido o un equipo de secado por pulverización.

60 **[0057]** Las composiciones de liberación controlada para uso oral se pueden construir para liberar el fármaco activo mediante el control de la disolución y/o la difusión de la sustancia de fármaco activo. Se puede seguir cualquiera de una serie de estrategias para obtener la liberación controlada y la concentración plasmática diana en función del perfil de tiempo. En un ejemplo, la liberación controlada se obtiene mediante la selección apropiada de varios parámetros de formulación e ingredientes, que incluyen, por ejemplo, varios tipos de composiciones y recubrimientos de liberación controlada. De este modo, el fármaco se formula con excipientes apropiados en una composición farmacéutica que,

al administrarse, libera el fármaco de manera controlada. Los ejemplos incluyen composiciones de comprimidos o cápsulas de unidad única o múltiple, soluciones de aceite, suspensiones, emulsiones, microcápsulas, microesferas, nanopartículas, parches y liposomas. En ciertas realizaciones, las composiciones incluyen recubrimientos de polímeros biodegradables, de pH y/o sensibles a la temperatura.

**[0058]** La liberación controlada por disolución o difusión se puede lograr mediante el recubrimiento apropiado de una tableta, cápsula, gránulo o formulación granulada de compuestos, o incorporando el compuesto en una matriz apropiada. Un recubrimiento de liberación controlada puede incluir una o más de las sustancias de recubrimiento mencionadas anteriormente y/o, por ejemplo, laca, cera de abejas, glycowax, cera de ricino, cera de carnauba, alcohol estearílico, monoestearato de glicerilo, diestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerol, etilcelulosa, resinas acrílicas, ácido dl-poli-láctico, acetato butirato de celulosa, cloruro de polivinilo, acetato de polivinilo, vinilpirrolidona, polietileno, polimetacrilato, metacrilato de metilo, 2-hidroximetacrilato, hidrogeles de metacrilato, 1,3 butilenglicol, metacrilato de etilenglicol y/o polietilenglicoles. En una formulación de matriz de liberación controlada, el material de la matriz también puede incluir, por ejemplo, metilcelulosa hidratada, cera de carnauba y alcohol estearílico, carbopol 934, silicona, tristearato de glicerilo, acrilato de metilo-metacrilato de metilo, cloruro de polivinilo, polietileno y/o fluorocarbono halogenado.

**[0059]** Las formas líquidas en las que compuestos y composiciones se pueden incorporar para la administración por vía oral incluyen soluciones acuosas, jarabes adecuadamente aromatizados, suspensiones acuosas u oleosas, y emulsiones aromatizadas con aceites comestibles tales como aceite de semilla de algodón, aceite de sésamo, aceite de coco o aceite de cacahuete, así como los elixires y vehículos farmacéuticos similares.

#### *Revestimientos*

**[0060]** Las composiciones farmacéuticas formuladas para la administración oral, tales como comprimidos o cápsulas de la presente invención se pueden recubrir o componer de otro modo para proporcionar una forma de dosificación que proporcione la ventaja de liberación retardada o prolongada. El recubrimiento puede adaptarse para liberar la sustancia activa del fármaco en un patrón predeterminado (por ejemplo, para lograr una formulación de liberación controlada) o puede adaptarse para no liberar la sustancia activa del fármaco hasta después del paso del estómago, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento entérico (por ejemplo, polímeros que son sensibles al pH ("liberación controlada del pH"), polímeros con una tasa de hinchamiento, disolución o erosión lenta o dependiente del pH ("liberación controlada en el tiempo"), polímeros que se degradan por enzimas ("liberación controlada por enzimas" o "liberación biodegradable") y polímeros que forman capas firmes que se destruyen por un aumento de la presión ("liberación controlada por presión"). Los recubrimientos entéricos ejemplares que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas descritas en el presente documento incluyen recubrimientos de azúcar, recubrimientos de película (por ejemplo, basados en hidroxipropilmetilcelulosa, metilcelulosa, metil hidroxietilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa, copolímeros de acrilato, polietilcelulicos y/o polivinil) o recubrimientos a base de copolímero de ácido metacrílico, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, acetato succinato de hidroxipropil metilcelulosa, ftalato de acetato de polivinilo, goma laca y/o etilcelulosa. Además, se puede emplear un material de retardo temporal tal como, por ejemplo, monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

**[0061]** Por ejemplo, el comprimido o cápsula puede comprender una dosificación interna y un componente de dosificación externo, estando este último en forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes pueden separarse por una capa entérica que sirve para resistir la desintegración en el estómago y permitir que el componente interno pase intacto al duodeno o se retrase en la liberación.

**[0062]** Cuando se utiliza un recubrimiento entérico, de manera deseable, una cantidad sustancial del fármaco se libera en el tracto gastrointestinal inferior.

**[0063]** Además de recubrimientos que afectan la liberación retardada o prolongada, las composiciones de comprimidos sólidos pueden incluir un recubrimiento adaptado para proteger la composición de cambios químicos indeseados (por ejemplo, degradación química antes de la liberación de la sustancia farmacológica activa). El recubrimiento se puede aplicar sobre la forma de dosificación sólida de una manera similar a la descrita en Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, vols. 5 y 6, eds. Swarbrick y Boyland, 2000.

#### *Formulaciones para la liberación de drogas colónicas*

**[0064]** En algunas realizaciones, los sistemas de administración de fármacos de colon orientados se pueden utilizar. Los enfoques ejemplares incluyen:

- (a) enlace covalente del fármaco con el portador para formar un profármaco que es estable en el estómago y el intestino delgado y libera el fármaco en el intestino grueso tras la transformación enzimática por la microflora intestinal; los ejemplos de estos profármacos incluyen conjugados azoicos, conjugados de ciclodextrina, conjugados de glucósido, conjugados de glucuronato, conjugados de dextrano, polipéptidos y conjugados poliméricos;
- (b) enfoques para suministrar una molécula intacta al colon, como un recubrimiento con polímeros sensibles

al pH para liberar el fármaco a un pH neutro a alcalino, o un recubrimiento con polímeros biodegradables que liberan el fármaco tras la degradación de las bacterias en el colon;

(c) integrar el fármaco en matrices biodegradables e hidrogeles que liberan el fármaco en respuesta al pH o la biodegradación;

5 (d) sistemas de tiempo liberado en los que una vez que la formulación recubierta pasa por el estómago, el medicamento se libera después de un lapso de 3-5 horas, lo que equivale al tiempo de tránsito del intestino delgado;

(e) el uso de polímeros sensibles a redox en los que una combinación de polímeros azo y disulfuro, proporciona liberación de fármaco en respuesta al potencial redox del colon;

10 (f) el uso de polímeros bioadhesivos que se adhieren selectivamente a la mucosa colónica liberando lentamente el medicamento; y

(g) suministro de fármaco controlado osmótico donde el fármaco se libera a través de una membrana semipermeable debido a la presión osmótica.

#### 15 *Vías de administración*

[0065] Las composiciones pueden administrarse a un paciente en una variedad de formas dependiendo de la vía de administración seleccionada, como entenderán los expertos en la técnica y en relación con la enfermedad o afección particular a tratar. Las composiciones de la presente divulgación se pueden administrar, por ejemplo, mediante aplicaciones tópicas, enterales o parenterales. Las aplicaciones tópicas incluyen epicutánea, inhalación, enema, gotas para los ojos, gotas para los oídos y aplicaciones a través de las membranas mucosas en el cuerpo. Las aplicaciones enterales incluyen vías de administración oral, administración rectal, administración vaginal y tubos de alimentación gástrica. La administración parenteral incluye: intravenosa, intraarterial, intracapsular, intraorbital, intracardíaca, intradérmica, transtraqueal, subcuticular, intraarticular, subcapsular, subaracnoidea, intraespinal, epidural, intrastemal, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, transepitelial, nasal, intrapulmonar, intratecal, rectal, tópica. La administración parenteral puede ser por infusión continua durante un período de tiempo seleccionado.

[0066] Para la administración intravenosa o intratecal o inyección directa, la composición debe ser estéril y fluida en la medida que la composición se puede entregar por jeringa. Además del agua, el vehículo puede ser una solución salina tamponada isotónica, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), y mezclas adecuadas de los mismos. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y mediante el uso de surfactantes. En muchos casos, es preferible incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol o sorbitol, y cloruro de sodio en la composición. La absorción a largo plazo de las composiciones inyectables se puede lograr incluyendo en la composición un agente que retrasa la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

[0067] La elección de la vía de administración dependerá de si un efecto local o sistémico se ha de lograr. Por ejemplo, para efectos locales, la composición puede formularse para administración tópica y aplicarse directamente donde se desee su acción. Para efectos sistémicos a largo plazo, la composición puede formularse para administración enteral y administrarse a través del tracto digestivo. Para efectos de sistema, inmediatos y/o a corto plazo, la composición puede formularse para administración parenteral y administrarse por otras vías que no sean a través del tracto digestivo.

#### 45 *Administración parental*

[0068] Dentro del alcance de la presente descripción están también sistemas de depósito parenteral a partir de polímeros biodegradables. Estos sistemas se inyectan o se implantan en el tejido muscular o subcutáneo y liberan el fármaco incorporado durante largos períodos de tiempo, desde varios días hasta varios meses. Tanto las características del polímero como la estructura del dispositivo pueden controlar la cinética de liberación, que puede ser continua o pulsátil. Sistemas de depósito parenteral a base de polímero se pueden clasificar como implantes o micropartículas. Los primeros son dispositivos cilíndricos inyectados en el tejido subcutáneo mientras que el último se definen como partículas esféricas en el intervalo de los 10 - 100  $\mu\text{m}$ . La extrusión, compresión o moldeo por inyección se utilizan para fabricar implantes, mientras que para las micropartículas, el método de separación de fases, la técnica de secado por aspersión y las técnicas de emulsión de agua en aceite en agua se emplean con frecuencia. Los polímeros biodegradables más comúnmente usados para formar micropartículas son los poliésteres de ácido láctico y/o glicólico, por ejemplo, ácido poliglicólico y ácido poli L-láctico (microesferas de PLG/PLA). De particular interés son los sistemas de depósito de formación in situ, tales como pastas termoplásticas y sistemas de gelificación formados por solidificación, por enfriamiento, o debido a la transición sol-gel, sistemas de reticulación y organogeles formados por lípidos anfifílicos. Los ejemplos de polímeros termosensibles utilizados en los sistemas mencionados anteriormente incluyen N-isopropilacrilamida, poloxámeros (copolímeros de bloques de óxido de etileno y óxido de propileno, como el poloxámero 188 y 407), poli(N-vinil caprolactama), poli(siloetilenglicol), derivados de polifosfazenos y PLGA-PEG-PLGA.

#### 65 *Regímenes de dosificación*

**[0069]** La presente descripción se refiere a composiciones farmacéuticas para uso en métodos para modular la función cerebral, en particular, mejorar el estado de ánimo y/o estado psicológico, en el tratamiento de trastornos del desarrollo del cerebro, y en el tratamiento y/o la reducción del dolor se llevan a cabo administrando un nitrito inorgánico durante un tiempo y en una cantidad suficiente para mejorar el estado de ánimo y/o el estado psicológico, el tratamiento y/o la reducción del dolor y el tratamiento de los trastornos del desarrollo cerebral.

**[0070]** La cantidad y frecuencia de administración de las composiciones puede variar dependiendo de, por ejemplo, lo que se está administrando, el estado del paciente, y la forma de administración. En aplicaciones terapéuticas, las composiciones pueden administrarse a un paciente que sufre dolor (por ejemplo, dolor neuropático, neuropatía, neuropatía periférica diabética) en una cantidad suficiente para aliviar o aliviar parcialmente los síntomas de dolor (por ejemplo, malestar, dolor, opresión o rigidez) y sus complicaciones (p. ej., fatiga, insomnio, sistema inmunitario debilitado, depresión, ansiedad, estrés, irritabilidad o discapacidad). Es probable que la dosis dependa de variables tales como el tipo y la extensión de la progresión del dolor (por ejemplo, según lo determinado por la pauta "Escalera del dolor" de la Organización Mundial de la Salud), la gravedad del dolor (por ejemplo, agudo, subagudo, o crónico), la edad, el peso y el estado general del paciente en particular, la eficacia biológica relativa de la composición seleccionada, la formulación del excipiente, la vía de administración y el criterio del médico que lo atiende. Las dosis efectivas pueden extrapolarse a partir de curvas de dosis-respuesta derivadas de un sistema de prueba *in vitro* o modelo animal. Una dosis efectiva es una dosis que produce un resultado clínico deseable al, por ejemplo, mejorar un signo o síntoma de dolor o ralentizar su progresión.

**[0071]** La cantidad de nitrito inorgánico por dosis puede variar. Por ejemplo, un sujeto puede recibir de aproximadamente 0,1 µg/kg a aproximadamente 10.000 µg/kg. En general, el nitrito se administra en una cantidad tal que la concentración plasmática máxima varía de 150 nM a 250 µM. Las cantidades de dosis ejemplares pueden caer entre aproximadamente 0,1 y aproximadamente 2000 µg/kg; aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1000 µg/kg; aproximadamente 0,5 a aproximadamente 2000 µg/kg; aproximadamente 100 a aproximadamente 1500 µg/kg; aproximadamente 0,5 µg/kg a aproximadamente 500 µg/kg; aproximadamente 0,5 µg/kg a aproximadamente 250 µg/kg; aproximadamente 0,5 µg/kg a aproximadamente 100 µg/kg; aproximadamente 0,5 µg/kg a aproximadamente 50 µg/kg; aproximadamente 100 a aproximadamente 350 µg/kg; aproximadamente 340 a aproximadamente 750 µg/kg; o alrededor de 750 a alrededor de 1000 µg/kg. Las dosis ejemplares pueden ser aproximadamente 8,25 µg/kg, aproximadamente 10 µg/kg, aproximadamente 16,5 µg/kg, aproximadamente 20 µg/kg, aproximadamente 30 µg/kg, aproximadamente 50 µg/kg, aproximadamente 100 µg/kg, aproximadamente 165 µg/kg, aproximadamente 200 µg/kg, aproximadamente 500 µg/kg, aproximadamente 750 µg/kg, aproximadamente 1000 µg/kg, aproximadamente 1250 µg/kg, aproximadamente 1500 µg/kg, aproximadamente 1750 µg/kg, o aproximadamente 2000 µg/kg. Las concentraciones plasmáticas máximas a modo de ejemplo pueden variar de 0,05-10 µM, 0,1-10 µM, 0,1-5,0 µM, o 0,1-1 µM. Las concentraciones plasmáticas máximas pueden mantenerse durante 2-14 horas, 4-14 horas, 6-14 horas, 6-12 horas, o 6-10 horas.

**[0072]** La frecuencia del tratamiento también puede variar. El sujeto puede tratarse una o más veces al día (por ejemplo, una, dos, tres, cuatro o más veces) o cada tantas horas (por ejemplo, aproximadamente cada 2, 4, 6, 8, 12 o 24 horas). Preferiblemente, la composición farmacéutica se administra 1 o 2 veces durante 24 horas. La duración del tratamiento puede ser de duración variable, por ejemplo, para dos, tres, cuatro, cinco, seis, siete, ocho, nueve, diez o más días, dos semanas, 1 mes, 2 meses, 4 meses, 6 meses, 8 meses, 10 meses, o más de un año. Por ejemplo, el tratamiento puede ser dos veces al día durante tres días, dos veces al día durante siete días, dos veces al día durante diez días. Los ciclos de tratamiento pueden repetirse a intervalos, por ejemplo, semanalmente, bimestralmente o mensualmente, que están separados por períodos en los que no se administra ningún tratamiento. El tratamiento puede ser un tratamiento único o puede durar tanto como la vida útil del sujeto (por ejemplo, muchos años).

### Kits

**[0073]** El comprimido o cápsula se describe en el presente documento pueden usarse junto con un conjunto de instrucciones, es decir, para formar un kit. El kit puede incluir instrucciones para el uso de las composiciones farmacéuticas como terapia como se describe en el presente documento. Por ejemplo, las instrucciones pueden proporcionar regímenes terapéuticos y de dosificación para el uso de los compuestos de la invención para modular la función cerebral, en particular mejorar el estado de ánimo y/o el estado psicológico, en el tratamiento de trastornos del desarrollo cerebral y en el tratamiento y/o tratamiento. reducción del dolor.

### Metodos de tratamiento

**[0074]** La presente divulgación proporciona composiciones nutricionales y farmacéuticas de nitrito, por ejemplo, nitrito inorgánico, o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, tanto para la administración de suplementos nutricionales profiláctico y terapéutico, específicamente en el mantenimiento de un equilibrio en estado psicológico y aliviar el dolor (por ejemplo, dolor crónico). Específicamente, la presente divulgación se refiere a nuevas composiciones de nitrito, por ejemplo, nitrito inorgánico, o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, que puede usarse para tratar pacientes con dolor agudo, dolor subagudo o dolor crónico (por ejemplo, dolor que dura más de tres) hasta seis meses o dolor que se extiende más allá del período esperado de curación, y/o dolor que se origina a partir de un trauma/lesión o infección inicial, o dolor que puede ser una causa continua asociada con dolor

neuropático (p. ej., neuropatía periférica diabética, neuralgia herpética, neuralgia del trigémino, dolor del miembro fantasma, síndrome del túnel carpiano, ciática, neuralgia pudenda, síndrome de dolor regional complejo, polineuropatías sensoriales, mono-neuropatías o síndrome de dolor central, dolores de cabeza, dolor articular, dolor de articulaciones, dolor de espalda, dolor sinusal, dolor muscular, nervio dolor, y dolor que afecta partes específicas del cuerpo, como hombros, pelvis y cuello, y/o dolor que se asocia con dolor en la parte inferior de la espalda, artritis, dolor de cabeza, esclerosis múltiple, bromialgia, culebrilla, daño a los nervios o cáncer. La presente divulgación también se refiere a nuevas composiciones de nitrito, por ejemplo, nitrito inorgánico, o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo, que puede usarse para tratar pacientes con trastornos del estado de ánimo y/o un desequilibrio en el estado psicológico y trastornos del desarrollo cerebral.

#### *Dolor*

**[0075]** Después de los ensayos clínicos descritos en los Ejemplos siguientes, se observó que los pacientes que estaban tomando las composiciones de la divulgación también informaron de una reducción del dolor. Por lo tanto, se postuló que las composiciones de la invención pueden ser útiles en el tratamiento o reducción del dolor neuropático en realizaciones preferidas.

#### *Dolor neuropático*

**[0076]** El dolor neuropático puede tomar una variedad de formas dependiendo de su origen y puede ser caracterizado como agudo, subagudo o crónico dependiendo de la duración. El dolor agudo puede durar desde un par de horas hasta menos de 30 días. El dolor subagudo puede durar de uno a seis meses y el dolor crónico se caracteriza por un dolor que dura más de tres a seis meses o un dolor que se extiende más allá del período esperado de curación. En el dolor neuropático, el dolor puede describirse como neuropático periférico si la lesión iniciadora se produce como resultado de una transección parcial o completa de un nervio o trauma a un plexo nervioso. La neuropatía periférica puede deberse a lesiones traumáticas, infecciones, trastornos metabólicos, diabetes y/o exposición a toxinas. Alternativamente, el dolor neuropático se describe como neuropático central después de una lesión en el sistema nervioso central, como una lesión de la médula espinal o un accidente cerebrovascular. La invención incluye la administración de las composiciones descritas en el presente documento para tratar el dolor neuropático. Los tipos de dolor neuropático incluyen: neuropatía periférica diabética, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, dolor del miembro fantasma, síndrome del túnel carpiano, ciática, neuralgia pudenda, síndrome de dolor regional complejo, polineuropatías sensoriales, mono-neuropatías y síndrome de dolor central.

#### *Neuropatía*

**[0077]** Las composiciones descritas en el presente documento son útiles para el tratamiento de neuropatía, en particular, neuropatía periférica, diabética. La neuropatía puede tener muchas causas, como lesiones sostenidas o exposición a toxinas o enfermedades crónicas (p. ej., esclerosis múltiple de Parkinson, enfermedades autoinmunes y diabetes), y la diabetes es el factor de mayor riesgo. En los pacientes diabéticos, la neuropatía suele tardar muchos años en desarrollarse a medida que se van dañando los nervios con el tiempo debido a la exposición prolongada a los efectos dañinos de los niveles altos de glucosa en sangre. Cuanto más tiempo un sujeto tiene diabetes, mayor es el riesgo de desarrollar neuropatía. Las composiciones descritas en este documento pueden administrarse profilácticamente a un sujeto que tiene diabetes para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar neuropatía periférica diabética o terapéuticamente para tratar la neuropatía periférica diabética.

**[0078]** Sin pretender imponer ninguna teoría, las composiciones de nitrito descritas en el presente documento pueden ser especialmente beneficiosas para un sujeto diabético a través de su efecto indirecto sobre la vía de la sorbitolaldose reductasa, que está implicada en las complicaciones diabéticas. En sujetos diabéticos con un estado hiperglucémico alto, la afinidad por la aldosa reductasa por la glucosa aumenta, lo que conduce a niveles más altos de sorbitol y NADPH más bajos. NADPH actúa específicamente para promover la producción de óxido nítrico (NO) y glutatión, lo que resulta en la vasodilatación. La oxidación de NADPH a NADP<sup>+</sup> también es necesaria para evitar la formación de especies reactivas de oxígeno. Los niveles más bajos de NADPH en sujetos diabéticos inhiben la producción de NO y pueden conducir solos a la muerte de las células neuronales y al dolor. Por lo tanto, la capacidad de reponer el suministro de NO en algunos casos mejoraría los síntomas del dolor neuropático en sujetos con diabetes.

#### *Dolor inflamatorio*

**[0079]** El dolor inflamatorio es una forma de dolor que es causada por una lesión o inflamación del tejido (por ejemplo, en el dolor postoperatorio o la artritis reumatoide). Después de una lesión del nervio periférico, los síntomas generalmente se experimentan de manera crónica, distal al sitio de la lesión y se caracterizan por hiperestesia (sensibilidad aumentada a un estímulo natural), hiperalgesia (sensibilidad anormal a un estímulo nocivo), alodinia (sensibilidad generalizada asociada con hipersensibilidad a estímulos táctiles normalmente inocuos), y/o ardor espontáneo o disparando dolor lancinante. En el dolor inflamatorio, los síntomas son evidentes, al menos inicialmente, en el lugar de la lesión o en los tejidos inflamados y, por lo general, acompañan al dolor asociado con la artritis, el dolor musculoesquelético y el dolor postoperatorio. Los diferentes tipos de dolor pueden coexistir o el dolor puede transformarse de inflamatorio a neuropático durante el curso natural de la enfermedad, como en la neuralgia

postherpética.

#### *Dolor nociceptivo*

5 **[0080]** El dolor nociceptivo es el dolor experimentado en respuesta a un estímulo nocivo, tal como un pinchazo con una aguja o durante un traumatismo o cirugía. El dolor nociceptivo se puede dividir en superficial y profundo, y el dolor profundo en somático y visceral profundo. El dolor superficial se inicia por la activación de nociceptores en la piel o en los tejidos superficiales. El dolor somático profundo se inicia mediante la estimulación de los nociceptores en los ligamentos, tendones, huesos, vasos sanguíneos, fascias y músculos, y es un dolor sordo, doloroso, poco localizado. 10 El dolor visceral se origina en las vísceras (órganos). El dolor visceral puede estar bien localizado, pero a menudo es extremadamente difícil de localizar, y varias regiones viscerales producen dolor referido cuando están dañadas o inflamadas, donde la sensación se localiza en un área alejada del sitio de la patología o lesión.

#### *Otros tipos de dolor*

15 **[0081]** Dolor funcional se refiere a las condiciones en las que no existe patología periférica obvia o lesión al sistema nervioso. Esta forma particular de dolor se genera por una función anormal del sistema nervioso y las afecciones caracterizadas por dicho dolor incluyen la fibromialgia, la cefalea de tipo tensional y el síndrome del intestino irritable.

20 **[0082]** Las condiciones comunes asociadas con el dolor crónico incluyen lesiones en la espalda (por ejemplo, disco herniado o protuberante, estenosis espinal, fracturas por compresión, daños de tejidos blandos, fracturas traumáticas, y deformidades estructurales), dolores de cabeza (por ejemplo, dolores de cabeza por tensión muscular, dolores de tensión del ojo, migrañas, dolores de cabeza en racimo), dolor en las articulaciones (p. ej., osteoartritis, artritis reumatoide y lesión por esfuerzo repetitivo), fibromialgia y dolor asociado con el cáncer (p. ej., leucemia, cáncer cerebral, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer cervical, cáncer colorrectal, cáncer de endometrio, cáncer de esófago, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de hígado, cáncer de pulmón, linfoma, cáncer de ovario, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer renal, cáncer de piel, cáncer de estómago, cáncer de testículo, cáncer de tiroides y cáncer urotelial). 25

30 **[0083]** Las composiciones farmacéuticas y su uso en métodos de tratamiento de la presente descripción pueden ser útiles para el tratamiento, reducción o prevención de diversas formas de dolor, es decir, dolor inflamatorio, dolor nociceptivo, dolor funcional, y el dolor neuropático, ya sea agudo o crónico. Las afecciones ejemplares que pueden asociarse con dolor incluyen, por ejemplo, tejido blando, articulación, inflamación ósea y/o daño (por ejemplo, traumatismo agudo, osteoartritis o artritis reumatoide), síndromes de dolor miofascial (fibromilagia), dolores de cabeza dolor de cabeza, migraña y dolor de cabeza de tipo tensional), infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad cardiovascular isquémica, dolor post-ictus, anemia de células falciformes, enfermedad oclusiva vascular periférica, cáncer, afecciones inflamatorias de la piel o articulaciones, neuropatía diabética y daño tisular por cirugía o lesión traumática (p. ej., quemaduras, laceraciones o fracturas). 35

40 **[0084]** La presente descripción también puede ser útil para el tratamiento o la reducción del dolor músculo-esquelético (después de un trauma, infecciones, y ejercicio), dolor neuropático causado por la lesión de la médula espinal, tumores, compresión, inflamación, dolor dental, dolor por episiotomía, dolor profundo y visceral (p. ej., dolor cardíaco, dolor vesical o pélvico), dolor muscular, dolor ocular, dolor orofacial (p. ej., odontalgia, neuralgia del trigémino, neuralgia glossofaríngea), dolor abdominal, dolor ginecológico (p. ej., dismenorrea y trabajo de parto dolor), dolor asociado con daño en los nervios y raíces debido a traumatismo, compresión, inflamación, químicos tóxicos, trastornos metabólicos, afecciones hereditarias, infecciones, vasculitis y enfermedades autoinmunes, dolor en el sistema nervioso central, como dolor debido a la médula espinal o el cerebro daños en los tallos, accidentes cerebrovasculares, tumores, infecciones, enfermedades desmielinizantes, incluyendo esclerosis múltiple, dolor lumbar, ciática y dolor postoperatorio. 45

#### *Evaluación de la eficacia*

50 **[0085]** Las composiciones descritas en el presente documento pueden ser ensayadas para la eficacia en cualquier modelo animal estándar de dolor. Varios modelos ensayan la sensibilidad de los animales normales a estímulos intensos o nocivos (dolor fisiológico o nociceptivo). Estas pruebas incluyen respuestas a estímulos térmicos, mecánicos o químicos. Los estímulos térmicos generalmente implican la aplicación de estímulos calientes (que varían típicamente entre 42 y 55°C), incluidos, por ejemplo: calor radiante en la cola (prueba de deslizamiento de la cola), calor radiante en la superficie plantar de la pata trasera (prueba Hargreaves), la prueba de la placa calefactora y la inmersión de la pata trasera o la cola en agua caliente. La inmersión en agua fría, la evaporación de acetona o las pruebas con placa fría también se pueden usar para evaluar la sensibilidad al dolor por frío. Las pruebas que involucran estímulos mecánicos típicamente miden el umbral para provocar un reflejo de retirada de la pata trasera a los pelos von Frey de monofilamento de fuerza graduada o de un estímulo de presión sostenido a una pata (por ejemplo, el analgesiómetro Ugo Basile). También se puede medir la duración de una respuesta a un pinchazo estándar. Cuando se utiliza un estímulo químico, la respuesta a la aplicación o inyección de un químico irritante (p. ej., capsaicina, aceite de mostaza, bradiquinina, ATP, formalina, ácido acético) en la piel, articulaciones musculares u órganos internos (p. ej., vejiga o peritoneo) es medido. En particular, la evaluación del dolor tras la administración de las composiciones de 55 60 65

la invención en neuropatía periférica diabética puede estudiarse en modelos animales tales como ratas y ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina, que sirve como modelo de neuropatía periférica de la diabetes tipo 1 (ver, por ejemplo, Tesch et al., *Nephrology* 12 (3): 261-266, 2007), el modelo de ratón con deficiencia de leptina (ob/ob), que sirve como modelo de neuropatía periférica de la diabetes tipo 2 (ver, por ejemplo, Drel et al., *Diabetes*. 55 (12): 3335-3343, 2006), el modelo de ratón no obeso diabético (NOD), el modelo de ratón Ins2 Akita inducido espontáneamente, el modelo de ratón deficiente en el receptor de leptina Db/Db, el modelo de rata diabética espontánea WBN/Kob, el modelo SDT de rata grasa, el modelo de ratón C5BL/6J con dieta rica en grasas y el modelo PDN del mono Rhesus (véase, por ejemplo, Islam, *J Diabetes Res*. 2013: 149452, 2013).

**[0086]** Además, varias pruebas evalúan la sensibilización por dolor midiendo los cambios en la excitabilidad de los componentes periféricos o centrales de la vía neural del dolor. En este sentido, la sensibilización periférica (es decir, los cambios en el umbral y la capacidad de respuesta de los nociceptores de umbral alto) puede inducirse por estímulos de calor repetidos, así como la aplicación o inyección de productos químicos sensibilizadores (por ejemplo, prostaglandinas, bradiquinina, histamina, serotonina, capsaicina, o aceite de mostaza). La sensibilización central (es decir, los cambios en la excitabilidad de las neuronas en el sistema nervioso central inducidos por la actividad en las fibras de dolor periféricas) puede ser inducida por estímulos nocivos (por ejemplo, calor), estímulos químicos (por ejemplo, inyección o aplicación de irritantes químicos), o activación eléctrica de las fibras sensoriales.

**[0087]** Varias pruebas de dolor desarrolladas para medir el efecto de la inflamación periférica en la sensibilidad al dolor también pueden ser utilizadas para estudiar la eficacia de las composiciones descritas en este documento (Stein et al, *Pharmacol Biochem Behav* (1988) 31: 445-451; Woolf et al., *Neurosci.* (1994) 62: 327-331). Además, varias pruebas evalúan el dolor neuropático periférico utilizando lesiones del sistema nervioso periférico. Uno de estos ejemplos es el "modelo de dolor por axotomía" (Watson, *J. Physiol.* (1973) 231: 41). Otras pruebas similares incluyen la prueba SNL que involucra la ligadura de un nervio segmentario espinal (Kim y Chung *Pain* (1992) 50: 355), el modelo de Seltzer que involucra una lesión parcial del nervio (Seltzer, *Pain* (1990) 43: 205-18), el modelo de lesión nerviosa (SNI) (Decosterd y Woolf, *Pain* (2000) 87: 149), modelo de lesión por constricción crónica (CCI) (Bennett (1993) *Muscle Nerve* 16: 1040), pruebas con neuropatías tóxicas como la diabetes (modelo de estreptozocina), neuropatía de piridoxina, taxol, vincristina y otras neuropatías inducidas por agentes antineoplásicos, pruebas que implican isquemia a un nervio, modelos de neuritis periférica (p. ej., CFA aplicada peri-neurológicamente), modelos de neuralgia posherpética con infección por HSV y modelos de compresión.

**[0088]** El dolor crónico se ha caracterizado como una enfermedad que afecta la estructura y función del cerebro. Los estudios de resonancia magnética han demostrado una conectividad anatómica y funcional anormal, incluso durante el descanso que involucra áreas relacionadas con el procesamiento del dolor. También se ha demostrado que el dolor persistente causa pérdida de materia gris, reversible una vez que el dolor se ha resuelto. Por lo tanto, pueden usarse medidas de neuroplasticidad para evaluar la eficacia de las composiciones descritas en este documento. El electroencefalograma cerebral (EEG) se puede usar para medir los cambios en la actividad beta relativa, la actividad alfa y la actividad theta en sujetos que toman la composición en comparación con sujetos que no toman la composición.

**[0089]** La neuropatía afecta las fibras motoras o las grandes fibras sensoriales, y las herramientas tradicionales, como la electromiografía y los estudios de conducción nerviosa, son útiles para determinar la eficacia de la administración de las composiciones descritas en este documento a un sujeto. Las pruebas sensoriales cuantitativas también se pueden usar para determinar la eficacia del tratamiento. Las pruebas sensoriales cuantitativas implican la aplicación de estímulos mecánicos, térmicos o químicos controlados. Los sujetos informan de su percepción del estímulo e indican el punto en el que se vuelve doloroso, lo que permite una evaluación del umbral sensorial del sujeto para varios tipos de estímulos. Otros ensayos *in vivo* para medir la efectividad de las composiciones incluyen pruebas de monofilamento y pruebas de velocidad de conducción nerviosa. Las biopsias de piel también pueden ser útiles para monitorear la respuesta al tratamiento o la progresión de la enfermedad. Las biopsias de piel requieren que se tome una pequeña muestra de la epidermis, con anestesia local, desde cualquier parte del cuerpo. La muestra de la biopsia está inmunomarcada con un anticuerpo contra PGP9.5, un marcador panaxonal para que las pequeñas terminaciones nerviosas sensoriales en la piel se puedan ver y contar con un microscopio óptico. Las biopsias de la piel permiten la medición cuantitativa de las terminaciones nerviosas sensoriales en la epidermis porque existen como terminaciones nerviosas individuales que se pueden contar. Los datos normativos están disponibles para mostrar la densidad normal de las terminaciones nerviosas cutáneas y proporcionar un punto de comparación para el sujeto de prueba. Otras pruebas de eficacia *ex vivo* incluyen histopatología o biopsia de tejidos para buscar cambios en la atrofia axonal, distrofia axonal en la mielinización (es decir, desmielinización) y números reducidos de fibras mielinizadas grandes.

**[0090]** En todos los ensayos anteriores, las medidas de resultado pueden examinarse, por ejemplo, de acuerdo con el comportamiento, la electrofisiología, neuroquímica, o técnicas de imagen para detectar cambios en la actividad neural. En todas las pruebas anteriores, también se puede evaluar una mejora en la reducción del dolor mediante la determinación de las características farmacológicas y no farmacológicas del dolor, como la intensidad del dolor (como medida en una escala de dolor estandarizada), patrón (p. ej., constante, intermitente), ubicación, radiación, frecuencia, tiempo y duración, impacto en la calidad de vida (sueño, función, apetito y estado de ánimo).

*Trastornos del estado de ánimo y desequilibrio del estado psicológico*

**[0091]** La señalización NO en el cerebro puede modular una serie de procesos tales como diversas formas de plasticidad (potenciación y depresión a largo plazo, LTP y LTD), que regulan la actividad rítmica, incluida la motilidad intestinal, el ritmo respiratorio, los ritmos circuncidianos, el locomotor, y la oscilación talamocortical. Las composiciones descritas en este documento son compuestos efectivos donadores de NO que suministran NO a sitios específicos, por lo tanto, estas composiciones también pueden ser útiles para modular la función cerebral, en particular mejorar el estado de ánimo y/o psicológico, y en el tratamiento de trastornos del estado de ánimo, manteniendo un equilibrio en los niveles de NO.

**[0092]** El término trastorno del humor se refiere al estado emocional subyacente o longitudinal observado en un sujeto. Dos grupos de trastornos del estado de ánimo son ampliamente reconocidos; la división se basa en si un episodio maniaco o hipomaniaco ha estado presente alguna vez. Así, existen trastornos depresivos, de los cuales el más conocido y el más investigado es el trastorno depresivo mayor (TDM) y el trastorno bipolar (BD), que se caracteriza por episodios intermitentes de manía o hipomanía, generalmente entrelazados con episodios depresivos. También hay formas de depresión de MDD y BD que son menos graves y se conocen como trastorno distímico (en relación con MDD) y trastorno ciclotímico (en relación con BD).

**[0093]** Otros tipos de trastornos depresivos incluyen: depresión atípica, depresión melancólica, depresión mayor psicótica, la depresión catatónica, depresión posparto, trastorno afectivo estacional, y trastorno depresivo no especificado de otra manera (DD-NOS). Los trastornos bipolares incluyen: bipolar I, bipolar II, ciclotimia y trastorno bipolar no especificado de otra manera (BD-NOS). Los trastornos del humor también pueden clasificarse como inducido por sustancias. Estos trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias incluyen: trastornos del estado de ánimo inducidos por el alcohol, trastornos del estado de ánimo inducidos por bezodiazepina y trastornos del estado de ánimo inducidos por estimulantes (por ejemplo, anfetamina, metanfetamina y cocaína)

#### *Trastornos del desarrollo cerebral*

**[0094]** El NO también está involucrado en el mecanismo de aprendizaje y memoria a través de la mediación de formas específicas de LTP. Como tales, las composiciones descritas en el presente documento también pueden ser útiles para tratar trastornos del desarrollo cerebral, tales como: deterioro en el aprendizaje y la memoria, trastorno autista, síndrome de Rett, trastorno desintegrativo infantil, trastorno generalizado del desarrollo, no especificado de otro modo (PDD-NOS), y síndrome de Asperger. El autismo es un trastorno del desarrollo neural caracterizado por una interacción y comunicación social deficiente, y por un comportamiento restringido y repetitivo.

**[0095]** El autismo afecta el procesamiento de la información en el cerebro al alterar la forma en que las células nerviosas y sus sinapsis se conectan y organizan. El autismo se encuentra entre uno de los tres trastornos reconocidos en el espectro del autismo (TEA), los otros dos son el síndrome de Asperger, que carece de retrasos en el desarrollo cognitivo y del lenguaje, y un trastorno generalizado del desarrollo. Como el autismo es causado por disfunciones neurológicas, las composiciones de la divulgación también pueden ser útiles en el tratamiento del autismo y los trastornos relacionados con el desarrollo neural.

**[0096]** El síndrome de Rett, denominado originalmente como hiperamonemia cerebroatrófica, es un trastorno del neurodesarrollo de la materia gris del cerebro que afecta casi exclusivamente a las mujeres, pero también se ha encontrado en pacientes masculinos. Las características clínicas incluyen manos y pies pequeños y una desaceleración de la tasa de crecimiento de la cabeza (incluida la microcefalia en algunos casos). Los movimientos estereotipados repetitivos de la mano, como retorcer y/o poner repetidamente las manos en la boca, también son características clínicas comunes. Los sujetos con síndrome de Rett son propensos a trastornos gastrointestinales y hasta el 80% tienen convulsiones y, por lo general, no tienen habilidades verbales. Alrededor del 50% de los individuos afectados no son ambulatorios. La escoliosis, el retraso del crecimiento y el estreñimiento son características muy comunes del síndrome de Rett y pueden ser problemáticas. El síndrome de Rett se incluye en la amplia categoría de trastornos generalizados del desarrollo.

**[0097]** Trastorno desintegrativo infantil (CDD), también conocido como síndrome de Heller y la psicosis desintegrativa, es una condición rara que se caracteriza por la aparición tardía (> 3 años de edad) de los retrasos en el desarrollo del lenguaje, función social, y habilidades motoras. La DDC tiene cierta similitud con el autismo y, a veces, se considera una forma de bajo funcionamiento, pero a menudo se observa un período aparente de desarrollo bastante normal antes de una regresión en las habilidades o una serie de regresiones en las habilidades. Muchos niños ya están algo retrasados cuando el trastorno se hace evidente, pero estos retrasos no siempre son evidentes en los niños pequeños. La edad a la que puede ocurrir esta regresión varía, y puede ser desde la edad 2-10 con la definición de este inicio dependiendo en gran medida de la opinión. Algunos niños describen o parecen reaccionar a las alucinaciones, pero el síntoma más obvio es que las habilidades aparentemente obtenidas se pierden.

#### *Terapia/tratamiento de combinación*

**[0098]** El comprimido o cápsula de la invención también se pueden utilizar en conjunción con otros remedios conocidos en la técnica que se utilizan para tratar el dolor, los trastornos del estado de ánimo y/o desequilibrios en el estado psicológico, o trastornos del desarrollo del cerebro incluyendo medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE),

corticosteroides, paracetamol, opioides, relajantes musculares, medicamentos contra la ansiedad, antidepresivos, medicamentos anticonvulsivos, antipsicóticos, estabilizadores del ánimo, inhibidores de la recaptación de litio y serotonina (ISRS). La tableta o cápsula de la invención también se puede usar junto con otras formas de tratamiento que incluyen: terapias cognitivo-conductuales, terapias musicales, terapias artísticas, terapias grupales, psicoterapias, ejercicio físico, terapias con mascotas, terapias de comunicación, terapias educativas y terapias familiares. La elección del tratamiento específico puede variar y dependerá de la gravedad del dolor, trastorno del estado de ánimo o trastorno del desarrollo cerebral, la salud general del sujeto y el criterio del médico que lo atiende.

**[0099]** Para el tratamiento de dolor neuropático, el comprimido o la cápsula de la invención puede usarse antes de, simultáneamente con, o después de la administración de los antidepresivos tricíclicos (TCAs), tales como amitriptilina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) o inhibidores de norepinefrina, tales como duloxetina, milnacipran y venlafaxina, medicamentos antiepilépticos (AED), como gabapentina, pregabalina, topiramato y levetiracetam, y otros agentes neuropáticos para el dolor, tales como nortriptilina, bipropion, desipramina, anti-inflamatorios no esteroideos, opioides (p. ej., codeína, hidrocodona, hidromorfona, metadona, morfina, oxicodona), lidocaína, maltolato de galio y cannabinoides.

**[0100]** El presente comprimido o cápsula también se pueden formular en combinación con uno o más ingredientes activos, que pueden incluir un agente farmacéutico tales como AINE (por ejemplo, aspirina, ibuprofeno, ketoprofeno, trometamina de ketorolaco, y naproxeno), corticosteroides (p. ej., prednisolona, metilprednisolona, hidrocortisona, amcinonida, fluocinonida, flunisolida, prednicarato, betametasona y acetonida de triamcinolona), acetaminofeno, opioides (p. ej., morfina, fenatilo, oxicodona, codeína), relexantes musculares (p. ej., carisoprodol, ciclobenzaprina, y diazepam), medicamentos contra la ansiedad (por ejemplo, duloxetina, fluoxetina, alprazolam, escitalopram y lorazepam), antidepresivos (por ejemplo, desipramina, amitriptilina, agomelatina, etoperidona y fenelzina), medicamentos anticonvulsivos (por ejemplo, carbonato de litio, citrato de litio, topiramato, oxcarbazepina y ácido valproico), antipsicóticos (por ejemplo, aripiprazol, clozapina, risperidona, asenafina y olanzapina) e ISRS (por ejemplo, citalopram, paroxetina, fluvoxamina, y sertralina).

**[0101]** En una realización, cualquiera de los compuestos anteriores puede ser formulación con el comprimido o cápsula de la presente invención o se administra junto con la tableta o cápsula de la presente invención a un paciente que sufre de dolor (por ejemplo, neuropatía diabética u otro dolor neuropático). Cuando se administran conjuntamente, los dos compuestos se administran de forma deseable dentro de las 24 horas de diferencia entre sí (por ejemplo, dentro de las 12 horas, 8 horas, 4 horas, 2 horas, 1 hora, 30 minutos, 15 minutos o sustancialmente de manera simultánea).

**[0102]** • Por ejemplo, una composición puede incluir nitrito inorgánico y nitratos en una relación que está entre 1-5 y 1-100 nitrito:nitrato, por ejemplo, 1-5, 1-10, 1-30, 1-50, 1-70, o 1-100 nitrito:nitrato.

## EJEMPLOS

**[0103]** La siguiente lista de abreviaturas y definiciones de términos se utiliza en los ejemplos que se describen a continuación.

| Abreviaturas | Término  |
|--------------|--|
| ABI          | Índice braquial del tobillo                                    |
| ACS          | Síndrome coronario agudo                                       |
| AUC          | Área bajo Curva  |
| AE           | Evento adverso   |
| BID          | Dos veces al día   |
| CBC          | Recuento sanguíneo completo                                    |
| CFR          | Código de regulaciones federales                               |
| CHF          | Insuficiencia cardíaca   |
| CNS          | Sistema nervioso central                                       |
| Cmax         | Concentración de fármaco plasmático máximo                     |
| Ctau         | Concentración media de fármaco sobre intervalo de dosificación |
| DBP          | Presión arterial diastólica                                    |
| DLT          | Toxicidad limitante de dosis                                   |
| ECG          | Electrocardiograma   |
| eCRF         | Informe de caso electrónico                                    |
| EDC          | Captura de datos electrónicos                                  |
| FDA          | Administración de Alimentos y Medicamentos                     |
| FMD          | Vasodilatación mediada por flujo                               |
| G6PD         | Glucosa-6 fosfato deshidrogenasa                               |
| HbA1c        | Hemoglobina A1c  |
| CIF          | Consentimiento informado                                       |
| IL-6         | Interleucina-6   |
| PI           | Producto de investigación                                      |
| LOCF         | Última observación realizada                                   |

|    |         |  |
|----|---------|--|
|    | MDRD    | Modificación de la dieta en el estudio de enfermedades renales |
|    | MetHb   | Metahemoglobina  |
|    | NO      | Óxido nítrico  |
| 5  | NYHA    | Asociación del corazón de Nueva York                           |
|    | PAD     | Enfermedad Arterial Periférica                                 |
|    | PD      | Farmacodinámico  |
|    | PI      | Investigador principal   |
|    | PK      | Farmacocinético  |
|    | QoL     | Calidad de vida  |
| 10 | RAND 36 | RAND Encuesta corta de salud de 36 artículos                   |
|    | SAE     | Grave Evento adverso   |
|    | SBP     | Presión arterial sistólica                                     |
|    | SD      | Desviación estándar  |
|    | SICAM   | Molécula de adhesión intercelular soluble                      |
| 15 | SOC     | Clase de órganos sistémicos                                    |
|    | TIA     | Ataque isquémico transitorio                                   |
|    | VCAM    | Proteína de adherencia de células vasculares                   |
|    | WIQ     | Cuestionario de incapacidad para caminar                       |

20

**Ejemplo de referencia 1: Estudios clínicos de fase 2a**

***Justificación y detalles del estudio***

25

**[0104]** El nitrito de sodio se investigó como una nueva terapia para mejorar la función en pacientes con enfermedad arterial periférica. El objetivo general de este estudio de rango de dosis fue evaluar la seguridad, la farmacocinética, la tolerabilidad y la actividad biológica potencial de dosis múltiples de nitrito de sodio por vía oral en sujetos con PAD. Como se describió en detalle anteriormente, la fisiopatología primaria de la PAD se relaciona con la limitación en el flujo sanguíneo de las extremidades inferiores, lo que resulta en una tolerancia al ejercicio limitada y una calidad de vida reducida. Una característica común de la PAD es la disfunción endotelial, la disminución de la biodisponibilidad de NO y el agotamiento de las reservas de NO, un hallazgo que puede agravarse cuando la PAD y las enfermedades metabólicas, como la diabetes, coexisten. El nitrito de sodio es una sal inorgánica que se encuentra y se metaboliza in vivo. En concentraciones fisiológicas, se sabe que el nitrito de sodio causa vasodilatación.

30

35

**[0105]** El principal objetivo de este estudio clínico fase temprana fue evaluar la seguridad y tolerabilidad de múltiples dosis de dos veces al día 40 mg y 80 mg de nitrito de sodio en comparación con placebo durante un periodo de tratamiento de 10 semanas. El objetivo secundario de este estudio fue evaluar la farmacocinética del nitrito de sodio y demostrar el efecto farmacodinámico del nitrito de sodio en las medidas de la actividad biológica y las medidas funcionales de la distancia a pie y los síntomas de claudicación. Finalmente, se caracterizó y evaluó la relación entre dosis, concentración plasmática de nitrito de sodio y efectos farmacodinámicos. En este estudio, se realizaron múltiples evaluaciones de la actividad biológica y la función ambulatoria durante las pruebas estandarizadas de reactividad arterial y ejercicio limitado por claudicación. Las evaluaciones farmacodinámicas incluyeron: vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial (FMD), prueba de caminata de seis minutos, biomarcadores seleccionados de interés, cuestionarios de calidad de vida (WIQ y RAND 36).

40

45

**[0106]** Los criterios de valoración primarios incluyen: la seguridad clínica y los datos de tolerabilidad incluyendo la notificación espontánea AE, ECG, los signos vitales, observación de enfermería/médica, y los valores de laboratorio clínico. Los puntos finales secundarios incluyeron respuestas de vasodilatación mediadas por flujo, distancia máxima recorrida durante una prueba de caminata de seis minutos, farmacocinética plasmática (incluyendo AUC, C<sub>max</sub>, C<sub>tau</sub>) de nitrito de sodio y la relación con las evaluaciones farmacodinámicas realizadas en este estudio y calidad de vida (WIQ & RAND 36). Además, los puntos finales farmacodinámicos/biomarcadores exploratorios incluyeron cambios en los marcadores de inflamación, estrés oxidativo, función metabólica, angiogénesis u otros marcadores de enfermedad aterosclerótica, según los datos permitidos (p. ej., nitrito de sodio, nitrito, nitrato, molécula de adhesión intercelular soluble (SICAM), Proteína de adhesión celular vascular (VCAM), isoprostanos F2 e interleucina-6 (IL-6). El tipo de ensayo fue un estudio de dosificación múltiple de diseño paralelo, aleatorizado, controlado con placebo, con rango de dosis y dirigido a sujetos con PAD. Los sujetos tenían al menos 35 años de edad, pero no más de 85 años de edad. Si el sujeto experimentó claudicación, los sujetos también tuvieron antecedentes de 1 mes de síntomas de PAD estables. Los sujetos fueron asignados al grupo de tratamiento con placebo o nitrito de sodio de acuerdo con el programa de aleatorización generado antes del inicio del estudio. Los sujetos fueron aleatorizados en el estudio se realizó mediante un sistema de respuesta web interactivo (IWRS) a través de la captura de datos electrónicos (EDC) para recibir uno de los regímenes de tratamiento de placebo, 40 mg BID u 80 mg BID. Como se trataba de un estudio doble ciego, los sujetos, los investigadores y el personal del sitio estaban cegados. TheraVasc y CPC también fueron cegados. En el caso de una emergencia médica o en el caso de una afección médica grave, cuando el conocimiento del producto en investigación era esencial para el manejo clínico o el bienestar del sujeto, un investigador u otro médico que maneje el sujeto podría desenmascarar el código de tratamiento del sujeto. El investigador hizo todo lo posible por ponerse en contacto con el Monitor Médico de CPC antes de desbloquearlo para discutir las opciones. Si la ceguera

50

55

60

65

se rompiera por cualquier motivo y el investigador no pudiera comunicarse con el CPC antes de la desconexión, el investigador debería notificar el CPC tan pronto como sea posible después del incidente de desenfoco sin revelar la asignación de tratamiento del estudio del sujeto, a menos que la información fuera importante para la seguridad de sujetos que quedan en el estudio. Además, el investigador registraría la fecha y la razón para revelar la asignación de tratamiento ciego para ese sujeto en la herramienta de recopilación de datos adecuada. Si se requería un informe reglamentario expedito a una o más agencias reguladoras, el informe identificó la asignación de tratamiento del sujeto. Cuando corresponde, se envió una copia del informe reglamentario a los investigadores de acuerdo con las regulaciones pertinentes, la política de CPC, o ambas.

5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

***El producto en investigación (PI)***

**[0107]** Cápsulas de nitrito de sodio a una dosis de 40 mg y 80 mg por cápsula que debían almacenarse a temperatura ambiente controlada (20 - 25°C, 68-77°F). Las cápsulas de placebo correspondientes también se suministraron y almacenaron a temperatura ambiente controlada. TV1001 se suministró en botellas de 50 unidades dispensadas de acuerdo con el programa de visitas descrito en la Tabla 1. La PI se almacenó en condiciones de seguridad. Bicare, Global Clinical Supplies etiquetó, almacenó y distribuyó el nitrito de sodio y el placebo correspondiente. La propiedad intelectual fue asignada y administrada como se describe a continuación. La tabla 2 describe los detalles del fármaco del estudio.

**Tabla 1. Calendario de evaluaciones**

| Nombre de visita                                 | Cribado           | Visita 1<br>(Aleatorización) | Visita 2           | Visita 3         | Visita de Seguridad <sup>1</sup> | Visita 4           | Visita 5           | Llamada telefónica 1 | Llamada telefónica 2 | Visita 6           | Visita 7          | Visita de Seguridad <sup>1</sup> | Visita de terminación 8          | Llamada de seguimiento                | Término temprano |
|--|-------------------|------------------------------|--------------------|------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------|----------------------|----------------------|--------------------|-------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------------|------------------|
| Tiempo (días)                                    | -21 a -14<br>Días | Día 0                        | Día 1<br>± 4 horas | Día 4<br>± 1 día | Día 7<br>± 1 día                 | Día 14<br>± 2 días | Día 23<br>± 2 días | Día 42<br>± 2 días   | Día 53<br>± 2 días   | Día 70<br>± 2 días | Día 71<br>± 1 día | Día 71 + 1<br>± 1 día            | 6 días después de V7<br>± 1 días | 7 días después de V8 o ET<br>± 1 días | n/a              |
| Variación permitida                              |                   |                              |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Consentimiento permitido                         | X                 |                              |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Demografía                                       | X                 |                              |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Antecedentes médicos y farmacológicos            | X                 | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Reconocimiento físico                            | X                 |                              |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  | X                                |                                       | X                |
| Signos vitales <sup>2</sup>                      | X                 | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       | X                |
| ECG de 12 desviaciones                           | X                 | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       | X                |
| Lab. de seguridad clínica                        | X                 | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       | X                |
| Lab. Met-Hb <sup>3</sup>                         |                   |                              | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       | X                |
| Muestra PK                                       |                   |                              | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       | X                |
| PK y Met-Hb por 7 puntos temporales <sup>3</sup> |                   | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Prueba de embarazo urinaria                      | X                 | X                            |                    |                  |                                  | X                  |                    |                      |                      |                    |                   |                                  | X                                |                                       | X                |
| Biomarcadores PD                                 |                   | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      | X                  |                   |                                  |                                  |                                       | X                |
| Índice tobillo-brazo (ITB)                       | X                 |                              |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| FMD <sup>4</sup>                                 |                   | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      | X                  |                   |                                  |                                  |                                       | X                |
| QoL (WIIQ, RAND 36)                              |                   | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      | X                  |                   |                                  |                                  |                                       | X                |
| Prueba caminata de 6 min.                        |                   | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      | X                  |                   |                                  |                                  |                                       | X                |
| Medicación de estudio dispensada                 |                   | X                            |                    |                  |                                  | X                  | X                  |                      |                      |                    | X                 |                                  |                                  |                                       |                  |
| Eventos adversos                                 |                   | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  | X                    | X                    | X                  | X                 | X                                | X                                | X                                     | X                |
| Medicaciones concomitantes                       |                   | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  | X                    | X                    | X                  | X                 | X                                | X                                | X                                     | X                |
| Evaluar criterios de inclusión/exclusión         | X                 | X                            |                    |                  |                                  |                    |                    |                      |                      |                    |                   |                                  |                                  |                                       |                  |
| Evaluar criterios de detención del estudio       |                   | X                            | X                  | X                | X                                | X                  | X                  |                      |                      | X                  | X                 | X                                | X                                |                                       |                  |

1 Esta visita solo fue requerida si Met-Hb es 8% o más.

2 Signos vitales son supinos antes de la primera dosis de IP y postural después de la primera dosis.

3 Extracciones de sangre repetidas ocurrieron en la línea de base (pre-dosis) y post-dosis a los 15 minutos ± 5 minutos, 30 minutos ± 5 minutos, 1 hora ± 10 minutos, 2 horas ± 10 minutos, 4 horas ± 10 minutos, y 6 horas ± 10 minutos.

4FMD puede realizarse 7 días antes del resto de Visita 1 y 5 días antes del resto de la Visita 6.

Tabla 2. Fármaco de estudio

|   |   |   |
|---|---|---|
| <b>Estudio de drogas</b>                        | TV 1001   | Placebo   |
| <b>Forma</b>                                    | Cápsula   | Cápsula   |
| <b>Unidad disponible<br/>fuerza(s) de dosis</b> | 40 y 80 mg  | 40 y 80 mg emparejados  |
| <b>Vía/Administración</b>                       | Administrado oralmente  | Administrado oralmente  |
| <b>Proveedor</b>                                | TheraVasc Inc.  | TheraVasc Inc.  |
| <b>Fabricante</b>                               | UPM Pharmaceuticals 6200 Seaforth Street, Baltimore, MD 21224 | UPM Pharmaceuticals 6200 Seaforth Street, Baltimore, MD 21224 |

15 **[0108]** Se instruyó a los sujetos para que devolvieran la medicación del estudio no utilizada y el envase vacío en cada visita del estudio; Todas las cápsulas devueltas fueron contadas y registradas en la forma apropiada. El cumplimiento se calculó como el número de cápsulas tomadas dividido por el número de cápsulas esperado. Si un sujeto tomara menos cápsulas de lo esperado, el personal del sitio lo asesoraría sobre la importancia del cumplimiento de la propiedad intelectual. Los investigadores fueron responsables de la recepción y el almacenamiento adecuado de la medicación del estudio, así como del mantenimiento de los registros de entrega del producto al sitio, el inventario en el sitio, la entrega del producto a cada sujeto y la devolución del producto a TheraVasc, o persona designada, al final del estudio. Todos los paquetes de medicamentos usados, no utilizados y parcialmente usados fueron devueltos de acuerdo con las instrucciones de TheraVasc o su representante.

25 **[0109]** El estudio se detuvo si hubo cambios significativos en los parámetros de seguridad o AEs importantes que se consideran relacionados con el tratamiento con la medicación del estudio (es decir, un desequilibrio en el perfil de seguridad en sujetos que reciben un fármaco activo frente a placebo). Un sujeto individual fue retirado a discreción del investigador responsable y el equipo de estudio del sitio por los motivos que se enumeran a continuación, así como por otros motivos de seguridad que pueden no estar en la lista. En el caso de que se retiraran uno o más sujetos, se reclutaron sujetos adicionales para asegurar que un número adecuado de sujetos complete la cohorte. Las razones específicas para que un sujeto individual se retire incluyen:

- Sujetos con un patrón de eventos adversos graves en cualquier SOC, o hallazgos de monitoreo cardíaco según lo determinado por el investigador y/o el patrocinador.
- Sujetos con valor de metahemoglobina  $\geq 15\%$  en cualquier ocasión durante la participación en el estudio.
- Sujetos con presión arterial basal normal que experimentaron cualquiera de los siguientes síntomas: un aumento de la presión arterial a 160 mm Hg sistólica y/o 90 mmHg diastólica que persiste durante 24 horas, un aumento desde la presión arterial basal de 30 mm Hg sistólica y/o 15 mm Hg diastólica que persiste durante 24 horas, cualquier aumento sintomático en presión sanguínea.
- Sujetos con presión arterial elevada estable al inicio que experimentaron cualquiera de los siguientes: un aumento de la presión sanguínea a 180 mm Hg sistólica y/o 100 mmHg diastólica que persiste durante 24 horas, un aumento desde la presión arterial basal de 20 mm Hg sistólica y/o 10 mm Hg diastólica que persiste durante 24 horas, cualquier aumento sintomático de la presión arterial.
- Los sujetos que experimentaron una disminución de la presión arterial basal de  $\geq 20$  mm Hg sistólica con o sin un aumento de 10 pulsos por minuto (BPM) y la presencia de síntomas.

**[0110]** Cualquier sujeto que desarrolló hipertensión o hipotensión que requiere intervención fueron seguidos de la resolución, de preferencia hasta cualquier terapia de intervención fue retirada.

50 **[0111]** No hubo Comité de Supervisión de Datos (DMC) para este estudio y la seguridad fue supervisada por el Estudio experto médico designado. Se formó un Comité de Dirección compuesto por el Director Ejecutivo del Patrocinador, dos clínicos con experiencia en ensayos clínicos, un experto en reglamentación médica y un investigador con experiencia en nitrato de sodio y sus efectos biológicos. El CPC proporcionó informes de estado mensuales al Comité sobre el reclutamiento de los sujetos en cada sitio, informes monitoreados de las actividades del sitio y otra información no relacionada con la seguridad del ensayo. El distribuidor de los kits de botellas proporcionó informes similares de manera ciega en relación con la cantidad de kits distribuidos en cada sitio, las botellas devueltas y cualquier problema que surgiera en la aleatorización o distribución de la PI, asegurando que no se proporcionó información al Comité en cuanto a la aleatorización real. El Comité discutirá los informes y, si se notara alguna desviación del protocolo o el incumplimiento del acuerdo del investigador o el plan general de investigación, se tomaron medidas rápidamente para corregir dichas desviaciones y garantizar el cumplimiento o descontinuar los envíos del medicamento en investigación al investigador. La participación del investigador en la investigación requiere que todo el medicamento en investigación se devuelva al patrocinador y se notifique a la FDA. El Comité supervisó la acumulación de sujetos en cada sitio y, cuando fue necesario, discontinuó los sitios que no podían inscribir los sujetos y agregar sitios adicionales. El Comité se reunió dentro de dos días laborales después de recibir cualquier información que podría afectar la seguridad del sujeto. El Comité discutió toda la información de seguridad con CPC e informó a la FDA y a todos los investigadores

clínicos activos de cualquier información relevante a la seguridad del medicamento según lo requerido en 21 CFR 312,32. El comité realizó informes anuales sobre el progreso de las investigaciones de acuerdo con 21 CFR 312,33. No se planificó ningún análisis interino para este estudio.

## 5 **Visitas de estudio**

**[0112]** Las visitas de estudio incluyen los siguientes componentes:

### *Cribado*

10 **[0113]** Esta visita se realizó dentro de los 14 a 21 días de la Visita 1 – Aleatorización. Se obtuvo un formulario de consentimiento informado firmado (CIF) antes de realizar cualquier evaluación específica del estudio. Se realizaron las siguientes evaluaciones de detección: (1) consentimiento informado, (2) datos demográficos, (3) historial médico y de medicamentos, (4) examen físico, (5) signos vitales supinos, (6) laboratorios de seguridad clínica, (7) prueba de embarazo en orina, (8) Índice braquial de tobillo y (9) evaluación de los criterios de inclusión/exclusión.

### *Visita 1-Aleatorización*

20 **[0114]** Esto fue considerado el día 0 del estudio. Los sujetos fueron asignados al azar en esta visita y recibieron la primera dosis de la medicación del estudio. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Actualización del historial médico y de medicamentos, (2) ECG de 12 derivaciones, (3) Prueba de embarazo en orina, (4) Fiebre aftosa (puede realizarse dentro de los 7 días anteriores a la Visita 1), (5) Cuestionarios de calidad de vida (WIQ y RAND 36), (6) Prueba de caminata de seis minutos, (7) Evaluar criterios de inclusión/exclusión, (8) Medicación del estudio dispensada (la dosis de la medicación del estudio ocurrió en la clínica. Los sujetos permanecieron en el sitio de la clínica para un seguimiento de seguridad hasta que se completó el último muestreo de PK), (8) Muestreo de PK (pre-dosis y post-dosis: 15, 30 minutos  $\pm$  6 minutos, y 1, 2, 4, 6 horas  $\pm$  10 minutos), (9) Muestreo de MetHb (pre-dosis y post-dosis: 15, 30 minutos  $\pm$  5 minutos, y 1, 2, 4, 6 horas  $\pm$  10 minutos), (10) Biomarcadores PD, (11) Signos vitales posturales, (12) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes (los eventos adversos se capturaron después de la administración de la primera dosis), y (13) Evaluar los criterios de detención del estudio.

### *Visita 2 (Día 1)*

35 **[0115]** Esta visita se realizó 1 día (24 horas) +/- 4 horas después de la administración de la primera dosis en la Visita 1. El sujeto debe haber tomado la dosis de la mañana de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo MetHb, (4) Signos Vitales Posturales, (5) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, y (6) Evaluar los criterios de detención del estudio.

### *Visita 3 (Día 4)*

45 **[0116]** Esta visita se realizó 4 +/- 1 día después de la Visita 1. El sujeto debe haber tomado la dosis de la mañana de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo MetHb, (5) Signos Vitales Posturales, (6) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, (7) Evaluar los criterios de detención del estudio (si el sujeto no cumple con los criterios de detención pero experimenta un aumento de MetHb a 8% o más, y se programó una visita de seguridad opcional en el día 7 como se describe a continuación).

### *Visita opcional de seguridad (Día 7)*

50 **[0117]** Esta visita se llevó a cabo sólo si el sujeto tenía un MetHb en la visita 3 de 8% o superior. Debe realizarse 7 días después de la Visita 1 +/- 1 día. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo de MetHb. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Muestreo de MetHb, (3) Signos vitales posturales, (4) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, y (5) Evaluación de los criterios de detención del estudio.

### *Visita 4 (Día 14)*

60 **[0118]** Esta visita se realizó 14 +/- 2 días después de la Visita 1. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo de PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo MetHb, (5) Prueba de Embarazo en Orina, (6) Signos Vitales Posturales, (7) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, (8) Evaluar los criterios de detención del estudio, (9) Cumplimiento con los medicamentos del estudio y (10) Medicación del estudio dispensada.

65

*Visita 5 (Día 28)*

**[0119]** Esta visita se realizó 28 +/- 2 días después de la Visita 1. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo MetHb, (5) Signos Vitales Posturales, (6) ECG de 12 derivaciones, (7) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, (8) Evaluar los criterios de detención del estudio, (9) Cumplimiento de la medicación del estudio y (10) Dispensación de la medicación del estudio.

*Llamada telefónica 1*

**[0120]** Se realizó una llamada telefónica al sujeto 42 +/- 2 días después de la Visita 1. Se cuestionó al sujeto con respecto a cualquier evento adverso y cambios en los medicamentos concomitantes.

*Llamada telefónica 2*

**[0121]** Se realizó una llamada telefónica al sujeto 56 +/- 2 días después de la Visita 1. Se cuestionó al sujeto con respecto a cualquier evento adverso y cambios en los medicamentos concomitantes.

*Visita 6 (Día 70)*

**[0122]** Esta visita se realizó 70 +/- 2 días después de la Visita 1. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo de MetHb, (5) Biomarcadores de DP, (5) Signos vitales posturales, (6) Fiebre aftosa (puede realizarse dentro de los 5 días anteriores a la Visita 6), (7) Cuestionarios de calidad de vida (WIQ y RAND 36), (8) Prueba de caminata de seis minutos, (9) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, (10) Evaluar los criterios de detención del estudio y (11) Cumplimiento de la medicación del estudio.

*Visita 7 (Día 71)*

**[0123]** Esta visita se llevó a cabo 1 día + 1 día después de la Visita 6. El sujeto debe haber tomado la dosis de la mañana de la medicación del estudio (aumento de la dosis) en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo PK. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Medicación del estudio dispensada, (2) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio (después de dispensar y administrar la medicación del estudio, se instruyó a los sujetos para que aumentaran de 1 cápsula BID a 2 cápsulas BID como se describe. El sujeto permaneció en clínica durante un ½ horas de observación después de la dosis), (3) Laboratorios de seguridad clínica, (4) Muestreo PK, (5) Muestreo MetHb (el sujeto permaneció en la clínica hasta que los resultados estaban disponibles), (6) Signos vitales posturales, (7) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, (8) Evaluar los criterios de detención del estudio (si el sujeto no cumplió con los criterios de detención pero experimentó un aumento de MetHb a 8% o más, se programó una visita de seguridad en el Día 70 + 2 como se describe a continuación) en la visita de seguridad opcional (visita 7 + 1), (9) evaluación de seguridad (inmediatamente antes de la partida del sujeto), (10) evaluación de los resultados de MetHb y (11) signos vitales asentados: frecuencia del pulso y PA.

*Visita opcional de seguridad (Visita 7 + 1)*

**[0124]** Esta visita se realizó solo si el sujeto tiene un MetHb en la Visita 7 del 8% o más. Se realizó 1 + 1 día después de la visita 7. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo de MetHb. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, (2) Muestreo de MetHb, (3) Signos vitales posturales, (4) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, y (5) Criterios de evaluación del estudio evaluado.

*Visita 8- Terminación (Visita 7 + 6)*

**[0125]** Esta visita se realizó 6 +/- 1 días después de la Visita 7. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo de PK. Esta sería la dosis final y la visita de estudio. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Examen físico, (2) Laboratorios de seguridad clínica, (3) Muestreo PK, (4) Muestreo de MetHb, (5) Prueba de embarazo en orina, (6) Signos vitales posturales, (7) ECG de 12 derivaciones, (8) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes, y (9) Estudio de cumplimiento de medicamentos.

*Llamada telefónica de seguimiento*

**[0126]** Se realizó una llamada telefónica al sujeto 7 +/- 1 días después de la Visita 8. Si este sujeto finaliza anticipadamente el estudio, se realizó una llamada telefónica al sujeto 7 días después de la visita del ET +/- 1 día. Se

cuestionó al sujeto con respecto a cualquier evento adverso y cambios a medicamentos concomitantes.

*Visita de terminación temprana (ET)*

5 **[0127]** En el caso de que un sujeto deba retirarse antes de la participación en el estudio por cualquier motivo antes de la Visita 6, se hizo todo lo posible para completar una visita de terminación anticipada. El sujeto debe haber tomado la dosis matinal de la medicación del estudio en la clínica 30 minutos (+/- 10 min) antes del muestreo de PK, a menos que el sujeto haya sido retirado por seguridad y deba dejar de tomar PI de inmediato. Se realizaron las siguientes evaluaciones: (1) Administración de la dosis matinal de la medicación del estudio, si corresponde, (2) Examen físico, (3) Laboratorios de seguridad clínica, (4) Muestreo PK, (5) Muestreo de MetHb, (6) Biomarcadores de DP, (7) Signos vitales posturales, (8) ECG de 12 derivaciones, (9) FMD (puede realizarse dentro de los 5 días anteriores a la visita a ET), (10) Cuestionarios de calidad de vida (WIQ y RAND 36), (11) Prueba de caminata de seis minutos, (12) Prueba de embarazo en orina, (13) Evaluación de medicación de eventos adversos/concomitantes y (14) Cumplimiento de la medicación del estudio. Además, si la terminación temprana ocurrió después de la Visita 6 pero antes de la ventana de visita apropiada para la Visita 8, se completaron todos los procedimientos requeridos en la Visita 8.

**Selección y retirada de sujetos.**

20 **[0128]** Los criterios de inclusión incluyeron sujetos entre las edades de 35 y 85 años. Los sujetos deben ser hombres o mujeres postmenopáusicas, esterilizados o con un método anticonceptivo adecuado. El control de la natalidad adecuado debe ser la abstinencia total, la esterilización de pareja masculina o el método de doble barrera combinado con el uso de anticonceptivos orales, progestágenos inyectables, implantes de levonorgestrel, anillo vaginal estrogénico, parches anticonceptivos percutáneos o dispositivo intrauterino (DIU). Una historia clínica de enfermedad arterial periférica (EAP) se confirmó mediante un cuadro médico o un índice braquial de tobillo en reposo de  $\leq 0,90$ . Si los sujetos recibieron un tratamiento médico estándar para los factores de riesgo cardíaco, el sujeto debe haber estado en un tratamiento estable durante al menos 1 mes antes de la selección. Si se incluyen en este régimen, los tratamientos como el cilostazol, pentoxifilina, estatinas o inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA); entrenamiento de rehabilitación de ejercicio supervisado; la participación en un programa de cesación de fumar formal o la prescripción de medicamentos para dejar de fumar no se modificaron significativamente en el último mes y no se esperaba que cambiaran durante la duración del estudio. Si los sujetos experimentaron síntomas de claudicación, los sujetos deben tener síntomas estables de las extremidades inferiores durante al menos 1 mes (por ejemplo, sin cambios en los síntomas de claudicación) antes de la selección. Los sujetos debían proporcionar un consentimiento informado por escrito y estar dispuestos a documentar en un formulario de consentimiento informado firmado.

35 **[0129]** Los criterios de exclusión incluyeron sujetos con PAD no aterosclerótica (por ejemplo, vasculitis de Buerger), revascularización quirúrgica o percutánea de la extremidad inferior, la evidencia de fracaso del injerto o de otro procedimiento quirúrgico vascular periférico en los últimos 6 meses anteriores a la selección, anticipada de la extremidad inferior de revascularización dentro del período de tratamiento, infarto de miocardio, angina inestable, accidente cerebrovascular o ataque isquémico transitorio (AIT) dentro de los 3 meses anteriores al examen de detección, diabetes mal controlada ( $\text{HgA1c} > 10,0$ ), hipertensión mal controlada (presión arterial sistólica (PAS)  $\geq 160$  mmHg o presión arterial diastólica (PAD)  $\geq 100$  mmHg) a pesar del tratamiento, presión arterial sistólica  $\leq 100$  mmHg en el régimen médico actual, hipersensibilidad al nitrito de sodio o compuestos relacionados, e insuficiencia renal documentada como  $\text{eGFR} < 30$  ml/minuto/1,73 m<sup>2</sup> (Modificación de la dieta en el estudio de enfermedad renal MDRD). Los criterios de exclusión también incluyeron mujeres que estaban embarazadas o en lactancia, que tenían una expectativa de vida de  $< 6$  meses, una enfermedad crónica que puede aumentar los riesgos asociados con este estudio en la opinión del investigador, una enfermedad maligna activa que requiere terapia antineoplásica activa que, en opinión del investigador, interfirió con el tratamiento o la participación en el estudio (aunque se permitió el cáncer de piel de células basales estable y se permitió el tratamiento del cáncer únicamente con terapia hormonal), una infección activa (es decir, sistémica u osteomielitis), una clasificación de la NYHA CHF III o IV, ha tenido una hospitalización reciente ( $< 30$  días) por síndrome coronario agudo (SCA), infarto de miocardio (IM), insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) o accidente cerebrovascular, revascularización coronaria reciente ( $< 30$  días) previamente tratada con factores angiogénicos o terapia con células madre dentro de 1 año antes de la prueba de detección, participó en otro ensayo clínico de PAD durante el último mes anterior a la prueba de detección, tenía tendón, músculo o hueso expuestos o un diagnóstico de isquemia crítica de la pierna (CLI, por sus siglas en inglés), fue amputado previamente dentro de los 3 meses anteriores a la prueba de detección, o tuvo una amputación planificada que limitaría la caminata (aunque se permite el dedo pequeño). Los criterios de exclusión también incluyeron sujetos cuya capacidad para realizar la prueba de caminata de 6 minutos estaba limitada por síntomas distintos a la claudicación, a quienes se les diagnosticó alcohol u otras sustancias, tenían antecedentes de metahemoglobinemia ( $\text{metHb} \geq 15\%$ ), que no podían hablar inglés (debido a la necesidad de administrar un cuestionario estandarizado en idioma inglés), que presentaban pruebas de anemia o antecedentes de afección hemolítica crónica, incluida la enfermedad de células falciformes, que tenían un uso crónico de medicamentos contra la migraña como Imitrex o sumatriptán, y cribado positivo para la deficiencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PD) en el cribado. Los sujetos que tomaron crónicamente los siguientes medicamentos: alopurinol, inhibidores de la PDE-5, antidepresivos sedantes tricíclicos, antihistamínicos sedantes, meperidina y narcóticos relacionados con el sistema nervioso central (SNC) y los nitratos también fueron excluidos.

65 **[0130]** Los criterios de retirada permitieron que un sujeto se retirara del estudio en cualquier momento a petición

propia. El sujeto también puede haber sido retirado a solicitud del Investigador si fue la opinión del Investigador de que no estaba en el mejor interés del sujeto continuar en el estudio. El sujeto fue retirado si él o ella cumplía con los criterios de detención descritos anteriormente. En el caso de que un sujeto fuera retirado del estudio por algún motivo, se le hizo un seguimiento con un esfuerzo razonable para determinar el motivo de su retiro del estudio y una visita a la ET como se describe anteriormente. Llamadas telefónicas, cartas certificadas y ofertas de asistencia de transporte se consideraron esfuerzos razonables. En la Tabla 3 se proporciona un resumen de los retiros de materias.

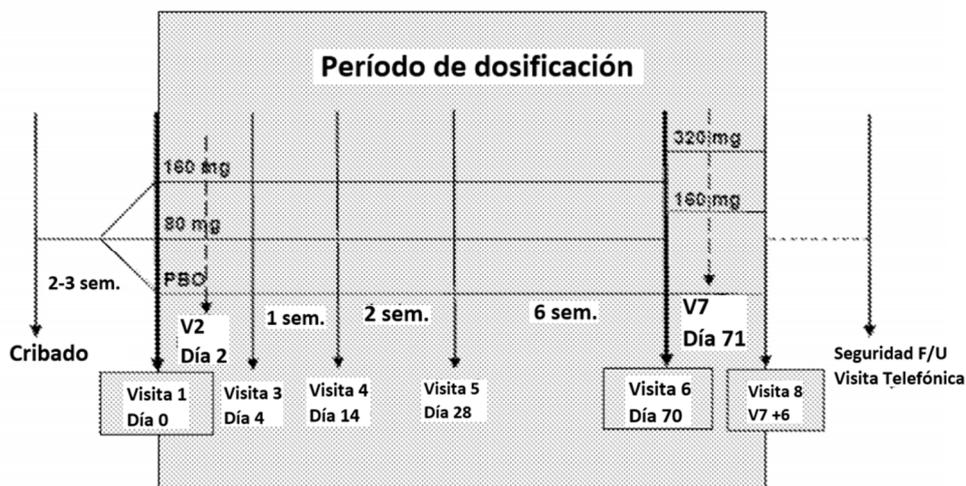
**Tabla 3. Retiros de sujetos  
RESUMEN DE LA DISPOSICIÓN DEL SUJETO**

|   | Placebo n=18 | 40 mg n=19 | 80 mg n=18 |
|---|--------------|------------|------------|
| Los sujetos que completaron el estudio            | 15 (83,3%)   | 17 (89,5%) | 15 (83,3%) |
| Sujetos que se retiraron antes de la finalización | 3 (16,7%)    | 2 (10,5%)  | 3 (16,7%)  |
| Razones para el retiro:                           |              |            |            |
| Evento adverso                                    | 0 (0,0%)     | 1 (5,3%)   | 2 (11,1%)  |
| Retiro Met- nueva hipotensión                     | 1 (5,6%)     | 0 (0,0%)   | 1 (5,6%)   |
| Solicitud del sujeto- falta de energía            | 0 (0,0%)     | 1 (5,3%)   | 0 (0,0%)   |
| Solicitud del sujeto- rechazada para continuar    | 1 (5,6%)     | 0 (0,0%)   | 0 (0,0%)   |
| Solicitud del sujeto- sin beneficio               | 1 (5,6%)     | 0 (0,0%)   | 0 (0,0%)   |

**Tratamiento de sujetos**

[0131] Los tres brazos de dosificación fueron placebo, 40 mg BID y 80 mg BID nitrito de sodio como se ilustra en la Tabla 4 a continuación. Todas las dosis se administraron como una dosis oral dos veces al día durante 10 semanas. Al día siguiente del periodo de dosificación de 10 semanas y la finalización de las evaluaciones de eficacia, los sujetos en cada brazo de tratamiento ingresaron en un período de aumento de dosis de 6 días (duplicación de la dosis). Los sujetos en el grupo de 40 mg de nitrito de sodio BID aumentaron la dosis a 80 mg de nitrito de sodio BID durante 6 días, y los sujetos en el 80 mg de nitrito de sodio BID aumentaron la dosis a 160 mg de nitrito de sodio BID durante 6 días. Los sujetos con placebo duplicaron el número de cápsulas de placebo tomadas BID. Todos los medicamentos del estudio se suspendieron al final del periodo de aumento de dosis de 6 días.

**Tabla 4. Brazos de dosificación**



[0132] Se prohibió a los sujetos que tomaban de forma crónica Imitrex (sumatriptán), alopurinol, inhibidores de la PDE-5, antidepresivos tricíclicos sedantes, antihistamínicos sedantes, meperidina y depresores narcóticos relacionados con el SNC, y nitrato que participaran en este estudio.

[0133] Los sujetos fueron instruidos para devolver la medicación del estudio no utilizado en cada visita de estudio; todas las cápsulas devueltas fueron contadas y registradas en la forma apropiada. El cumplimiento se calculó como el número de cápsulas tomadas dividido por el número de cápsulas esperado. El número de cápsulas tomadas se calculó restando el número de cápsulas restantes de 50, el número de cápsulas en la botella. Si un sujeto tomó menos cápsulas de lo esperado, el personal del sitio aconsejó al sujeto sobre la importancia del cumplimiento de la propiedad intelectual. Los investigadores fueron responsables de la recepción y el almacenamiento adecuado de la medicación del estudio, así como el mantenimiento de los registros de entrega del producto al sitio, el inventario en el sitio, la administración del producto a cada sujeto y la devolución del producto a TheraVasc, o persona designada, al final del estudio. Todos los paquetes de medicamentos usados, no utilizados y parcialmente usados se devolvieron de acuerdo

con las instrucciones de TheraVasc o su representante.

**Evaluación de la eficacia**

5 **[0134]** Los parámetros de eficacia incluyeron: (1) la vasodilatación mediada por flujo (FMD), la prueba de marcha de seis minutos, la farmacocinética (PK), biomarcadores/farmacodinámicos marcadores (PD), y cuestionarios de calidad de vida (CdV).

10 **[0135]** De importancia para la presente invención son las respuestas relacionadas con la calidad de vida. La calidad de vida se midió mediante dos cuestionarios: WIQ y RAND 36. Los dos cuestionarios se administraron en la misma secuencia: WIQ primero, seguido del RAND 36. El WIQ fue un instrumento específico de la enfermedad que mide el caminar basado en la comunidad. El cuestionario constaba de cuatro subescalas (gravedad del dolor, distancia, velocidad y escaleras). La WIQ fue administrada verbalmente al sujeto por el Investigador, o su representante. El RAND 36 fue un instrumento que mide los problemas generales de salud. El personal del estudio dirigió las preguntas para completar el RAND 36 por su cuenta. El personal no trató de interpretar las preguntas para el sujeto. Si el sujeto no entendía una pregunta en particular, el personal del estudio le indicó que interpretara el significado de la pregunta lo mejor que pudiera y proporcionara una respuesta que pareciera más precisa para el sujeto. A ningún miembro de la familia u otras personas se les permitió responder a preguntas o completar el cuestionario para el sujeto. Todos los cuestionarios se completaron directamente en las páginas del documento escrito. El coordinador del estudio revisó todos los cuestionarios para asegurarse de que hubiera solo una respuesta a cada pregunta, cada pregunta ha sido contestada y cualquier corrección necesaria ha sido iniciada y fechada por el Investigador (o persona designada) o el sujeto, según corresponda. Los resultados de las evaluaciones físicas y psicológicas de RAND 36 se detallan en las Figuras 1A-B. RAND 36 mostró una tendencia hacia la mejora en la evaluación de la calidad de vida y una mejora significativa en la evaluación del dolor en el grupo de 40 mg. Los resultados de las evaluaciones de WIQ se detallan en las Figuras 2A-B. WIQ no mostró cambios en la evaluación de la distancia a pie y una tendencia hacia la mejora en la velocidad de caminar y subir escaleras.

**Evaluación de la seguridad**

30 **[0136]** Se evaluaron los siguientes parámetros de seguridad: historial médico y la medicación, el uso de medicación concomitante, la edad, el examen físico, signos vitales, ECG de 12 derivaciones, química clínica, hemograma completo, análisis de orina, y los eventos adversos. Las pruebas de embarazo en orina se completaron para mujeres en edad fértil que no han sido esterilizadas quirúrgicamente. La evaluación de los eventos adversos agudos (es decir, la caída de la presión arterial, mareos) se realizó después de la administración de la primera dosis para cada nivel de dosis de nitrito de sodio. La toxicidad limitante de la dosis (TLD) se definió como grado 3 y eventos hemáticos clínicamente significativos, en particular MetHb.

40 **[0137]** En general, no se observaron efectos adversos graves en los grupos tratados. Se observaron efectos hipotensores dependientes de la dosis que demuestran los efectos hemodinámicos del tratamiento. Además, los niveles de metahemoglobina no eran preocupantes, incluso con el aumento de la dosis de 160 mg.

45 **[0138]** La información demográfica (Tabla 5) y un historial médico completo (Tabla 6) se obtuvieron en la visita de selección. Se documentó el historial médico de cualquier enfermedad en curso y durante 5 años antes de la detección y el historial de medicamentos durante el último mes. El historial médico y de medicación se revisó con el sujeto antes de la aleatorización para garantizar que todos los datos fueran precisos y completos hasta la fecha.

**Tabla 5. Datos demográficos**

|    |   | Placebo n=18     | 40-mg n=19      | 80-mg n=18      |
|----|---|------------------|-----------------|-----------------|
| 50 | Edad en consentimiento informado (años)   | 64,9 +/- 8,98    | 65,3 +/- 8,86   | 67,9 +/- 9,99   |
|    | Género                                    | 13 (72,2%)       | 15 (78,9%)      | 13 (72,2%)      |
|    | Hombre                                    | 5 (27,8%)        | 4 (21,1%)       | 5 (27,7%)       |
|    | Mujer                                     |                  |                 |                 |
| 55 | Raza/etnia                                |                  |                 |                 |
|    | Negra o afroamericana                     | 5 (27,8%)        | 6 (31,6%)       | 8 (44,4%)       |
|    | Blanca                                    | 12 (66,7%)       | 12 (63,2%)      | 10 (55,6%)      |
|    | Otra                                      | 1 (5,6%)         | 1 (5,3%)        | 0 (0,0%)        |
|    | Peso (kg)                                 | 88,07 +/- 27,24  | 79,32 +/- 13,53 | 88,99 +/- 16,70 |
|    | Altura (cm)                               | 173,18 +/- 13,29 | 172,01 +/- 9,87 | 172,18 +/- 9,95 |
| 60 | Evaluación BMI (kg/m2)                    | 29,32 +/- 8,31   | 26,71 +/- 2,99  | 30,01 +/- 5,03  |
|    | ABI en la extremidad índice en el cribado | 0,56 +/- 0,15    | 0,62 +/- 0,20   | 0,69 +/- 0,17   |
|    | Diagnóstico de diabetes                   | 10 (55,6%)       | 14 (73,7%)      | 14 (77,8%)      |
| 65 | Hb A1c (% Hb) en el cribado               | 6,97 +/- 1,48    | 6,99 +/- 1,27   | 6,71 +/- 0,94   |

**Tabla 6. Antecedentes del historial médico**

|    |   | <b>Placebo<br/>N=18</b> | <b>40-mg<br/>N=19</b> | <b>80-mg<br/>N=18</b> |
|----|---|-------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 5  | PAD en los últimos 5 años                                   | 18 (100%)               | 19 (100%)             | 18 (100%)             |
|    | Revascularización periférica en los últimos 5 años          | 8 (44,4%)               | 2 (10,5%)             | 8 (44,4%)             |
|    | Enfermedad de las arterias coronarias en los últimos 5 años | 6 (33,3%)               | 5 (26,3%)             | 7 (38,9%)             |
|    | Angina 2 (11,1%)  | 2 (11,1%)               | 0                     | 4 (22,2%)             |
| 10 | Infarto de miocardio  | 0                       | 2 (10,5%)             | 2 (11,1%)             |
|    | Revascularización coronaria en los últimos 5 años           | 1 (5,6%)                | 0                     | 4 (22,2%)             |
|    | Insuficiencia cardíaca congestiva                           | 1 (5,6%)                | 0                     | 1 (5,6%)              |
|    | Enfermedad cerebrovascular en los últimos 5 años            | 2 (11,1%)               | 3 (15,8%)             | 5 (27,8%)             |
|    | Accidente cerebrovascular isquémico                         | 0                       | 1 (5,3%)              | 1 (5,6%)              |
| 15 | TIA, mini ictus   | 1 (5,6%)                | 0                     | 1 (5,6%)              |
|    | Hipertensión  | 16 (88,9%)              | 18 (94,7%)            | 16 (88,9%)            |
|    | Dislipidemia  | 15 (83,3%)              | 18 (94,7%)            | 16 (88,9%)            |
|    | Diabetes tipo 1   | 0                       | 1 (5,3%)              | 0                     |
|    | Diabetes tipo 2   | 10 (55,6%)              | 12 (63,2%)            | 12 (66,7%)            |
| 20 | Trombosis venosa profunda/Embolismo pulmonar                | 0                       | 0                     | 2 (11,1%)             |
|    | Estent/Globo/Bypass   | 5 (27,8%)               | 0                     | 1 (5,6%)              |

**[0139]** Las evaluaciones ABI se midieron en la visita de selección para evaluar si el sujeto era apropiado de acuerdo con los criterios de inclusión. Las evaluaciones ABI se realizaron solo después de que el sujeto hubiera estado descansando en posición supina durante al menos 10 minutos. El ABI se definió como la relación entre la presión sistólica superior de las dos pedales (dorsalis pedis y tibial posterior) y la mayor de las dos presiones braquiales sistólicas. Se usó un Doppler de onda continua, entre 5 y 10 MHz, para medir las presiones sistólicas en la dorsalis pedis y las arterias tibiales posteriores en cada pierna, así como las arterias braquiales en cada brazo. Para el cálculo se utilizaron la mayor de las 2 presiones del brazo y la mayor de las 2 presiones del tobillo para cada pierna. El ABI se calculó para ambas piernas. El ABI debe tener menos de 0,90 en al menos una extremidad para calificar para el estudio.

**[0140]** El personal del sitio registró cualquier medicamento tomado por un sujeto después de la asignación al azar en el estudio, incluidos los suplementos nutricionales prescritos y los medicamentos de venta libre, y el motivo de su uso como medicamento concomitante. Si un sujeto requiriera tratamiento con alguno de los medicamentos listados como una terapia concomitante prohibida, él o ella sería retirado de la participación en el estudio y completaría una visita de TE.

**[0141]** Un examen físico completo se realizó en la selección e incluyó altura, el peso y las evaluaciones de los siguientes sistemas: aspecto general; ojos, orejas, nariz y garganta; cabeza y cuello; pecho y pulmones; cardiovascular; abdomen; musculoesquelético linfático; dermatológico; neurológico; y extremidades. En la Visita 8 o en la Terminación Temprana, un examen físico de seguimiento evaluó el peso y cualquier cambio en los sistemas mencionados anteriormente. Cualquier cambio significativo observado en la Visita 8 se documentó como un evento adverso a menos que el PI o la persona designada indique lo contrario.

**[0142]** Los signos vitales supinos se midieron en la visita de selección. El sujeto descansó en posición supina durante un mínimo de 3 minutos antes de obtener las mediciones de los signos vitales. Los signos vitales incluyen presión arterial y pulso. Se registraron los signos vitales posturales, incluidas las mediciones en posición supina y en pie de la presión arterial y la frecuencia del pulso, en todas las visitas de estudio después de la primera dosis de administración de PI. Las mediciones se realizaron de la siguiente manera: (1) el sujeto descansó en posición supina durante un mínimo de 3 minutos, (2) se midieron los signos vitales (BP y frecuencia del pulso) mientras el sujeto estaba en posición supina, (3) el sujeto asumió una posición de pie durante un mínimo de 5 minutos, y (4) se midieron los signos vitales (BP y frecuencia del pulso) mientras el sujeto estaba de pie. Los datos de frecuencia del pulso y presión arterial se detallan en la Tabla 7.

**Tabla 7. Frecuencia cardíaca y presión arterial**

|               |                      |         | Cribado    | Visita 1   | Visita 2   | Visita 3   | Visita 4   | Visita 5   | Visita 6   | Visita 7   | Visita 8   |      |
|---------------|----------------------|---------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------|
| 5             | Supino (medio)       | Pulso   | Placebo    | 73.6       | 74.4       | 73.0       | 71.0       | 74.8       | 74.6       | 73.1       | 73.1       | 75.6 |
|               |                      |         | 40-mg      | 71.4       | 74.1       | 74.1       | 74.7       | 71.7       | 72.7       | 70.4       | 73.1       | 70.2 |
|               |                      |         | 80-mg      | 63.9       | 65.6       | 65.1       | 66.7       | 64.6       | 68.7       | 65.5       | 64.3       | 68.3 |
|               | Presión arterial     | Placebo | 141.3/77.9 | 141.4/78.3 | 139.9/78.4 | 138.4/77.4 | 137.8/75.4 | 140.3/76.9 | 145.4/79.5 | 139.8/77.8 | 136.1/75.1 |      |
|               |                      | 40-mg   | 136.8/75.8 | 129.7/72.3 | 128.0/70.5 | 129.8/72.5 | 128.4/71.1 | 124.1/72.0 | 127.3/73.7 | 126.7/71.3 | 130.0/72.2 |      |
|               |                      | 80-mg   | 132.4/69.4 | 129.8/68.4 | 122.8/66.7 | 127.1/66.7 | 125.1/65.2 | 124.6/68.9 | 123.1/66.2 | 118.4/64.4 | 120.7/66.9 |      |
| 10            | De pie (medio)       | Pulso   | Placebo    | 78.1       | 77.8       | 74.9       | 78.1       | 78.5       | 76.0       | 76.1       | 77.4       |      |
|               |                      |         | 40-mg      | 75.8       | 78.6       | 76.7       | 75.6       | 76.6       | 73.9       | 76.3       | 74.3       |      |
|               |                      |         | 80-mg      | 72.6       | 72.3       | 72.9       | 72.6       | 72.5       | 67.6       | 70.4       | 72.6       |      |
|               | Presión arterial     | Placebo | 141.6/81.7 | 144.3/81.2 | 139.9/79.4 | 139.9/80.3 | 137.7/79.4 | 143.3/78.4 | 141.3/78.7 | 138.2/75.0 |            |      |
|               |                      | 40-mg   | 129.5/73.1 | 128.3/72.6 | 129.4/73.1 | 124.9/71.0 | 124.3/71.6 | 127.6/73.2 | 122.2/73.2 | 123.1/68.7 |            |      |
|               |                      | 80-mg   | 125.4/70.2 | 123.1/71.9 | 124.8/69.2 | 123.7/68.8 | 119.5/71.9 | 124.8/70.0 | 123.3/67.1 | 117.7/67.9 |            |      |
| 15            | Cambios ortostáticos | Pulso   | Placebo    | 3.7        | 4.8        | 3.9        | 3.3        | 3.9        | 2.9        | 3.0        | 1.8        |      |
|               |                      |         | 40-mg      | 1.8        | 4.5        | 2.0        | 3.9        | 3.8        | 3.5        | 3.2        | 4.1        |      |
|               |                      |         | 80-mg      | 6.9        | 7.3        | 6.2        | 7.9        | 3.8        | 2.1        | 6.1        | 4.3        |      |
|               | BP sistólico         | Placebo | 0.2        | 4.3        | 1.6        | 2.1        | -2.6       | -2.1       | 1.5        | 2.2        |            |      |
|               |                      | 40-mg   | -0.3       | 0.3        | -0.4       | -3.4       | 0.3        | 0.3        | -4.5       | -6.9       |            |      |
|               |                      | 80-mg   | -4.4       | 0.3        | -2.3       | -1.4       | -5.2       | 1.6        | 4.8        | -3.0       |            |      |
| BP diastólico | Placebo              | 3.3     | 2.8        | 1.9        | 4.9        | 2.5        | -1.1       | 0.9        | -0.1       |            |            |      |
|               | 40-mg                | 0.8     | 2.1        | 0.6        | -0.1       | -0.4       | -0.5       | 1.9        | -3.5       |            |            |      |
|               | 80-mg                | 1.8     | 5.2        | 2.5        | 3.5        | 3.0        | 3.8        | 2.7        | 1.0        |            |            |      |

[0143] Una copia impresa de ECG de 12 derivaciones en reposo con el sujeto en posición supina se obtuvo en los puntos temporales que Figuran en la Tabla 1-Calendario de evaluaciones. Todos los ECG fueron evaluados por el PI o persona designada para determinar la importancia clínica de cualquier anomalía o cambio y se documentaron en el documento de origen de ECG. Cualquier anomalía clínicamente significativa que se produjo después de la primera dosis de nitrito de sodio se registró como AE en el eCRF. El ECG de 12 derivaciones se obtuvo inmediatamente después de los vitales, con la excepción de la ECG en día de Visita 1 Aleatorización que se recogió antes de la dosificación. Los detalles de datos de ECG se proporcionan en la Tabla 8.

**Tabla 8. ECG**

|   |                                     | Visita 1       | Visita 5       | Visita 8       |
|---|-------------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| 40  | Frecuencia cardíaca (pulsos/minuto) |                |                |                |
|   | Placebo                             | 72,1 +/- 13,9  | 71,7 +/- 15,1  | 73,0 +/- 12,2  |
|   | 40-mg                               | 71,4 +/- 12,7  | 72,2 +/- 14,8  |                |
|   | 80-mg                               | 62,7 +/- 10,7  | 65,5 +/- 11,9  | 74,3 +/- 16,9  |
|   | 160-mg                              |                |                | 64,7 +/- 10,0  |
| 45  | Intervalo QTcB (mseg)               |                |                |                |
|   | Placebo                             | 433,2 +/- 33,0 | 430,9 +/- 24,0 | 438,6 +/- 35,3 |
|   | 40-mg                               | 415,9 +/- 49,0 | 430,1 +/- 34,8 |                |
|   | 80-mg                               | 422,3 +/- 34,0 | 411,6 +/- 49,7 | 423,2 +/- 40,3 |
|   | 160-mg                              |                |                | 427,7 +/- 31,9 |
| 50  | QTcF (mseg)                         |                |                |                |
|   | Placebo                             | 421,2 +/- 31,4 | 419,7 +/- 22,5 | 425,4 +/- 33,9 |
|   | 40-mg                               | 404,8 +/- 44,9 | 417,7 +/- 24,0 |                |
|   | 80-mg                               | 419,9 +/- 30,5 | 406,2 +/- 46,2 | 409,5 +/- 34,3 |
|   | 160-mg                              |                |                | 422,8 +/- 27,9 |
| Cambios QTc > 60 mseg: serio; Cambios QTc > 30 mseg: cuestionable |                                     |                |                |                |

[0144] Las evaluaciones de laboratorio se recogieron en los puntos de tiempo que Figuran en la Tabla 1. Todas las pruebas de laboratorio clínico de seguridad fue realizada por un laboratorio central, con la excepción de la prueba de embarazo en orina y metahemoglobina que se completó en el sitio. Las muestras se enviaron desde el sitio de investigación al laboratorio central. Se realizó una prueba de embarazo en orina en los puntos de tiempo enumerados en la Tabla 1 si alguna mujer no fue esterilizada quirúrgicamente o después de la menopausia.

[0145] Los laboratorios clínicos se llevaron a cabo con los sujetos en ayunas e incluyen los siguientes: Análisis de

orina: varilla de nivel de la proteína, la gravedad específica, el aspecto, pH, glucosa, sangre, bilirrubina, cetonas, y el examen microscópico. El panel de química clínica incluye: albúmina, fosfatasa alcalina, amilasa sérica, ALT, AST, BUN, calcio (suero), cloruro sérico, CO<sub>2</sub>, creatinina sérica, bilirrubina directa, Gamma-GT, glucosa, LDH, fósforo sérico, potasio, sodio, bilirrubina total, proteína total, ácido úrico, colesterol total, LDL, HDL, triglicéridos y HbA1c (solo cribado). Panel de hematología incluido: WBC, RBC, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, plaquetas, RDW.

**[0146]** Sujetos femeninos en este estudio que no eran posmenopáusicos o esterilizados preceptivamente utilizando los siguientes métodos de control de natalidad: la abstinencia total definida como la inactividad sexual, que es consistente con el estilo de vida preferido y habitual del sujeto, la abstinencia periódica (por ejemplo, el calendario, la ovulación, los métodos sintotérmicos, post-ovulación) y el retiro no fueron aceptables, la esterilización de la pareja masculina antes de que la mujer ingresara en el estudio; y este macho es la única pareja del sujeto, el método de doble barrera se define como el condón y el capuchón oclusivo (diafragma o tapones cervicales/de bóveda) más el agente espermicida (espuma/gel/película/crema/supositorio) combinado con la anticoncepción farmacéutica mencionada abajo:

- Anticoncepción oral, ya sea combinada o con progestágeno solo.
- Progestágeno inyectable
- Implantes de levonorgestrel
- Anillo vaginal estrogénico
- Parches anticonceptivos percutáneos.
- Dispositivo intrauterino (DIU) o sistema intrauterino (SIU) que cumple con la tasa de fallo <1% como se indica en la etiqueta del producto

**[0147]** Cualquier sujeto que quede embarazada durante el estudio no era elegible para continuar en el estudio y completar los procedimientos de finalización del estudio en ese momento. Se esperaba que los sujetos masculinos y sus parejas usaran métodos apropiados de control de la natalidad o se abstuvieran de tener relaciones sexuales. Los sujetos masculinos acordaron informar al Investigador de inmediato si su pareja se queda embarazada durante el período de monitoreo del estudio.

**[0148]** La información completa sobre el embarazo, incluido el resultado del embarazo, se recopiló en los documentos de origen de cualquier sujeto femenino o pareja de un sujeto masculino (si estaba dispuesta) que se embarazó durante este período de monitoreo del estudio. En ausencia de complicaciones, el seguimiento no será mayor de 6 a 8 semanas después de la fecha de entrega. Se informó de cualquier terminación prematura, ya sea electiva, terapéutica o espontánea. Si bien el embarazo en sí no se consideró como un efecto adverso, cualquier complicación del embarazo, incluida la terminación espontánea o la elección por razones médicas, debe informarse como un efecto adverso. Un aborto espontáneo fue considerado un SAE. Cualquier SAE que se produzca como resultado de un embarazo posterior al estudio y que el Investigador haya considerado razonablemente relacionado con el producto en investigación fue informada al Patrocinador.

**[0149]** Tal como se define por la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), un AE era cualquier ocurrencia médica desfavorable en un paciente o sujeto de investigación clínica administrado un producto en investigación, sea o no el evento se consideró relacionado con el producto de investigación. Por lo tanto, un AE fue cualquier signo desfavorable e involuntario (incluido un hallazgo de laboratorio anormal), síntoma o enfermedad (nueva o exacerbada) asociada temporalmente con el uso del producto en investigación y se recopiló a partir del momento en que se administró la PI. Los ejemplos de un AE incluyeron afecciones recientemente detectadas o diagnosticadas después de la administración del producto en investigación, incluidas las afecciones que pudieron haber estado presentes pero no detectadas antes del inicio del estudio, afecciones que se sabe que estuvieron presentes antes del inicio del estudio y que empeoran después de la administración del producto en investigación, los signos, los síntomas o las secuelas clínicas de una interacción farmacológica sospechosa, y los signos, los síntomas o las secuelas clínicas de una sobredosis sospechada de un producto en investigación o una medicación concurrente (la sobredosis per se no se informó como un AE). Los ejemplos de problemas que no se consideraron como AE incluyen: procedimientos médicos o quirúrgicos (p. ej., endoscopia, apendicectomía); una condición que conduce a un procedimiento es un AE si califica de acuerdo con las definiciones anteriores, situaciones en las que no ha ocurrido un suceso médico desfavorable (por ejemplo, admisión social, de observación, de diagnóstico o de conveniencia a un hospital), fluctuaciones de las condiciones de enfermedad(es) preexistente(s) o condición(es) presente(s) o detectada(s) al inicio del estudio que no representa una exacerbación clínicamente significativa, y resultados anormales de laboratorio o pruebas que no fueron evaluados por el PI o un subinvestigador con entrenamiento médico apropiado como clínicamente significativo. Un resumen de los eventos adversos se detalla en la Tabla 9.

**Tabla 9. Resumen de los eventos adversos**

|    |  | Placebo   | 40 mg      | 80 mg      |
|----|--|-----------|------------|------------|
| 5  | <b>En general:</b>                                   |           |            |            |
|    | Número (%) de sujetos con al menos un AE             | 9 (50,0%) | 12 (63,2%) | 14 (77,8%) |
|    | Número (%) de sujetos con al menos un TEAE           | 9 (50,0%) | 12 (63,2%) | 14 (77,8%) |
|    | Número de AE   | 15        | 32         | 40         |
|    | Número de TEAE                                       | 15        | 32         | 39         |
| 10 | Número de SAE  | 2         | 0          | 0          |
|    | Número de TEAEs por severidad                        |           |            |            |
|    | Leve   | 12        | 26         | 31         |
|    | Moderado   | 3         | 6          | 8          |
|    | Número de TEAE por relación con el estudio de drogas |           |            |            |
|    | No relacionado                                       | 12        | 10         | 9          |
| 15 | Posiblemente relacionado                             | 3         | 22         | 24         |
|    | Probablemente relacionado                            | 0         | 0          | 6          |
|    | Período de escalado de dosis de seis días solamente: |           |            |            |
|    | Número (%) de sujetos con al menos el TEAE           | 2 (11,1%) | 3 (15,8%)  | 7 (38,9%)  |
| 20 | Número de TEAE                                       | 2         | 3          | 11         |

**Métodos estadísticos**

[0150] Los datos demográficos, química clínica, CBC, biomarcadores, y los eventos adversos se resumieron en forma de tabla por nivel de dosis y en general. Se utilizaron estadísticas descriptivas para resumir los datos demográficos y clínicos, como los ECG y los signos vitales. Los valores de laboratorio por encima y por debajo del límite normal se marcaron y los eventos adversos se presentaron por SOC, gravedad y relación con el tratamiento del estudio.

[0151] El análisis de eficacia primaria se compara con el cambio desde el inicio y el Día 70 (Visita 6) de la fiebre aftosa entre los grupos agrupados con drogas y tratados con placebo después de 10 semanas de tratamiento usando una prueba t no pareada. En el caso de una distribución sustancialmente sesgada dentro de los grupos de comparación, se utilizó una prueba de Wilcoxon con rango de signos no paramétricos de dos muestras. Para los puntos finales de eficacia dicotomizados se ensayó la hipótesis nula  $H_0: rc=rp$  versus  $H_1: rc \neq rp$ , donde  $rc$  es la proporción de sujetos con mejores resultados en la cohorte BID y  $rp$  fue la proporción de sujetos con mejores resultados en la cohorte de placebo. Las diferencias entre los grupos se ensayaron con la prueba de chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher. Los análisis secundarios utilizaron medidas repetidas ANOVA basadas en ecuaciones de estimación generalizadas para incorporar tiempo, grupo e interacción. Otras variables de confusión se incluyeron en el marco de referencia de covariables. El análisis de los puntos finales secundarios, como la caminata de 6 minutos y los cuestionarios de calidad de vida, se realizó como se describe para el análisis de eficacia primario. Todas las decisiones estadísticas se tomaron antes del desenmascaramiento.

[0152] Además, los niveles plasmáticos de nitrito de sodio se tabularon y se representaron gráficamente como una curva de respuesta-dosis de registro. Los parámetros funcionales fueron tabulados por dosis y en general. Se calcularon los estadísticos de resumen y se prepararon curvas de respuesta de dosis logarítmica para cada parámetro, según corresponda.

[0153] Un plan de análisis estadístico fue desarrollado para especificar el enfoque estadístico, contrastes particulares de interés, y, además, incluye cualquier análisis exploratorio o no ajustado de los puntos finales de eficacia primaria por grupo de tratamiento.

[0154] Con un tamaño total de la muestra de 50 sujetos (n = 34 nitrito de sodio; n = 16 placebo), el estudio tenía -82% de potencia para detectar una diferencia en los medios de nitrito de sodio (grupos agrupados) en comparación con el placebo para el punto final de eficacia de la fiebre aftosa en el nivel de significancia bilateral de 0,050. Específicamente, con aproximadamente 34 sujetos en el grupo de nitrito de sodio agrupados y 16 sujetos en el grupo de placebo, el estudio tuvo un poder del 82,19% para detectar una diferencia del 1,4% en las respuestas de la fiebre aftosa entre los sujetos tratados con nitrito de sodio en comparación con los sujetos tratados con placebo después de 10 semanas de tratamiento con 1,6% de desviaciones estándar (DE). Por lo tanto, se determinó empíricamente que el tamaño de la muestra es suficiente para este estudio clínico en etapa temprana. Teniendo en cuenta los abandonos, un tamaño de muestra de hasta 60 sujetos (20 sujetos/grupo) fue suficiente para tener en cuenta los abandonos según sea necesario para lograr un tamaño de muestra final de aproximadamente 17 sujetos por grupo. La última observación realizada (LOCF) se aplicó a los datos faltantes.

**Ejemplo 2: Estudios clínicos de evaluación del dolor en poblaciones específicas de pacientes**

**Razón de estudio y resumen**

5 **[0155]** Como se ha descrito en el Ejemplo 1, nitrito de sodio se investigó como una nueva terapia para mejorar la función en sujetos con PAD. Durante la evaluación de la eficacia, se realizaron cuestionarios de calidad de vida (QoL) que mostraron que el grupo de sujetos que tomaron 40 mg de nitrito de sodio mostró una mejoría significativa en el dolor. El objetivo general de este estudio de rango de dosis es, por lo tanto, evaluar la mejoría en diferentes áreas de dolor asociadas con la administración de dosis múltiples de nitrito de sodio por vía oral a poblaciones de pacientes particulares (por ejemplo, sujetos con PAD, neuropatía periférica diabética o sujetos con cualquiera de los dolores neuropáticos descritos en este documento).

10 **[0156]** El principal objetivo de este estudio clínico es evaluar la eficacia de nitrito de sodio en la reducción del dolor neuropático y la seguridad y tolerabilidad de múltiples dosis de dos veces al día 40 mg y 80 mg de nitrito de sodio en comparación con placebo durante un periodo de tratamiento definido. En este estudio, se realizan múltiples evaluaciones de la actividad del dolor biológico y los síntomas asociados con el dolor durante las pruebas estandarizadas. Las evaluaciones incluyen: estudios de conducción nerviosa, pruebas neurosensoriales, inventario de dolor, pruebas de estado funcional y encuestas de dolor.

15 **[0157]** Los criterios de valoración en cuestión incluyen: inventarios de dolor breve, diarios de dolor, encuestas de depresión y estado funcional, y encuestas de dolor neuropático recopiladas de los sujetos que participaron en los estudios. Los puntos finales objetivos incluyen: estudios de conducción nerviosa, exámenes físicos, prueba de discriminación de dos puntos, pruebas neurosensoriales a través de exámenes físicos. Cada sujeto que participe en el estudio recibirá mensualmente una oximetría de pulso para demostrar la falta de metemoglobinemia.

20 **[0158]** El tipo de prueba es un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, intervalo de dosis, estudio de dosis múltiple de diseño paralelo apuntado en poblaciones particulares de pacientes (por ejemplo, los sujetos con PAD, neuropatía periférica diabética, o sujetos con cualquiera del dolor neuropático aquí descrito). El ensayo puede tener tres brazos con aproximadamente diez sujetos en cada brazo. Los sujetos se asignan al grupo de tratamiento con placebo o nitrito de sodio de acuerdo con el programa de aleatorización generado antes del inicio del estudio. Los sujetos se asignaron al azar al estudio para recibir uno de los regímenes de tratamiento con placebo, 40 mg BID u 80 mg BID del producto en investigación del Ejemplo 1 que se utiliza en estos estudios clínicos.

30

35

40

45

50

55

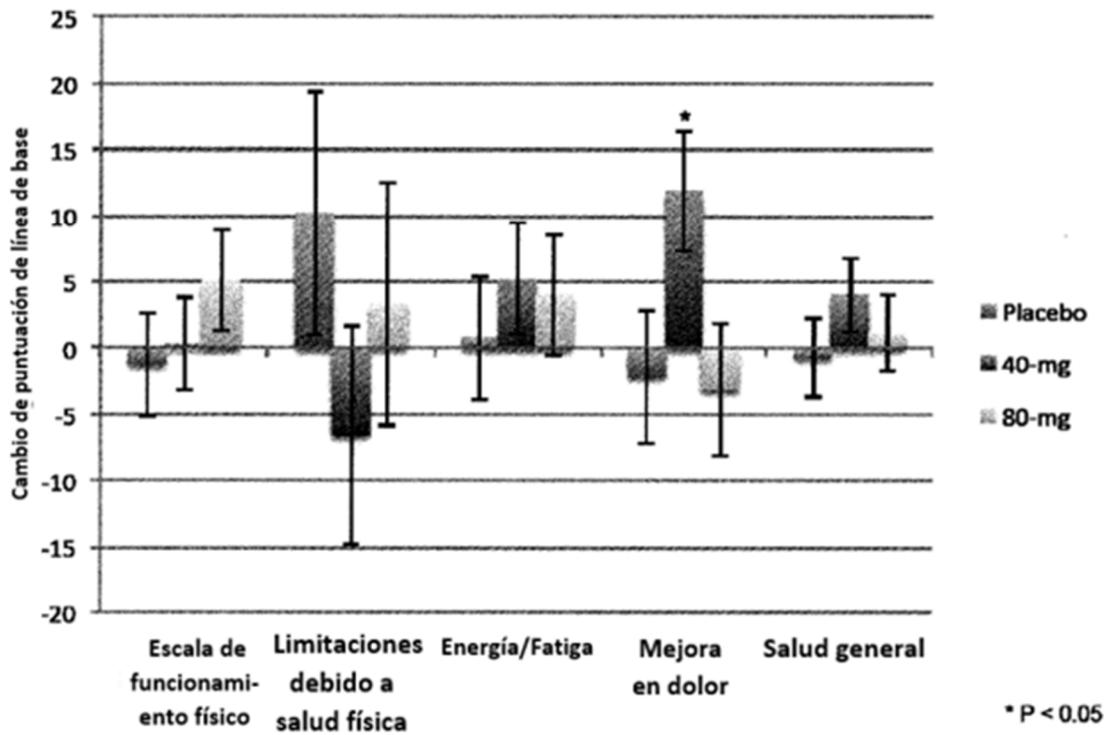
60

65

## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una tableta o cápsula formulada para la liberación sostenida de nitrito inorgánico en forma de  $\text{NaNO}_2$  o  $\text{KNO}_2$  y que consiste en 40 mg de nitrito inorgánico y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para usar en un método para tratar o reducir el dolor neuropático, en donde el método consiste en administrar oralmente a un sujeto que lo necesite, dicho comprimido o cápsula dos veces al día durante un tiempo suficiente para tratar o reducir dicho dolor neuropático, en el que dicho sujeto no tiene una afección asociada con la isquemia crónica.
- 10 **2.** La tableta o cápsula para uso según la reivindicación 1, en la que dicho método comprende además controlar si el sujeto experimenta dolor neuropático reducido.
- 3.** La tableta o cápsula para uso según la reivindicación 2, en donde el dolor neuropático reducido se mide como una disminución en la intensidad del dolor, la frecuencia, la duración y/o las mejoras en la calidad de vida.
- 15 **4.** La tableta o cápsula para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en la que dicho sujeto tiene diabetes tipo 1 o tipo 2.
- 5.** La tableta o cápsula para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en la que dicho sujeto tiene dolor neuropático crónico.
- 20 **6.** El comprimido o cápsula para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicho dolor neuropático se selecciona del grupo que consiste en neuropatía periférica diabética, neuralgia posherpética, neuralgia del trigémino, dolor del miembro fantasma, síndrome del túnel carpiano, ciática, neuralgia pudenda, síndrome de dolor regional complejo, polineuropatías sensoriales, mono-neuropatías y síndrome de dolor central.
- 25 **7.** La tableta o cápsula para uso según la reivindicación 6, en la que dicho dolor neuropático es neuropatía periférica diabética.
- 8.** El comprimido o cápsula para uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho nitrito inorgánico es  $\text{KNO}_2$ .
- 30 **9.** El comprimido o cápsula para uso como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde dicho nitrito inorgánico es de  $\text{NaNO}_2$ .
- 35 **10.** La tableta o cápsula para uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en la que dicho método comprende administrar dicha tableta o cápsula durante al menos diez días.
- 40 **11.** La tableta o cápsula para uso como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en donde dicho método comprende administrar dicha tableta o cápsula con un segundo agente, preferiblemente en donde dicho segundo agente se selecciona del grupo que consiste en: un fármaco anti-inflamatorio no esteroideo (AINE), un corticosteroide, acetaminofeno, un opioide, un relajante muscular, un medicamento contra la ansiedad, un antidepresivo, un medicamento anticonvulsivo, un antipsicótico, un fármaco antiepiléptico, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina (ISRS), un inhibidor de la norepinefrina y un estabilizador del estado de ánimo.
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

**Figura 1A**  
**Cuestionario Rand 36: Físico (medias por mínimos cuadrados)**



**Figura 1B**  
**Cuestionario de calidad de vida Rand: Psicológico (medias por mínimos cuadrados)**

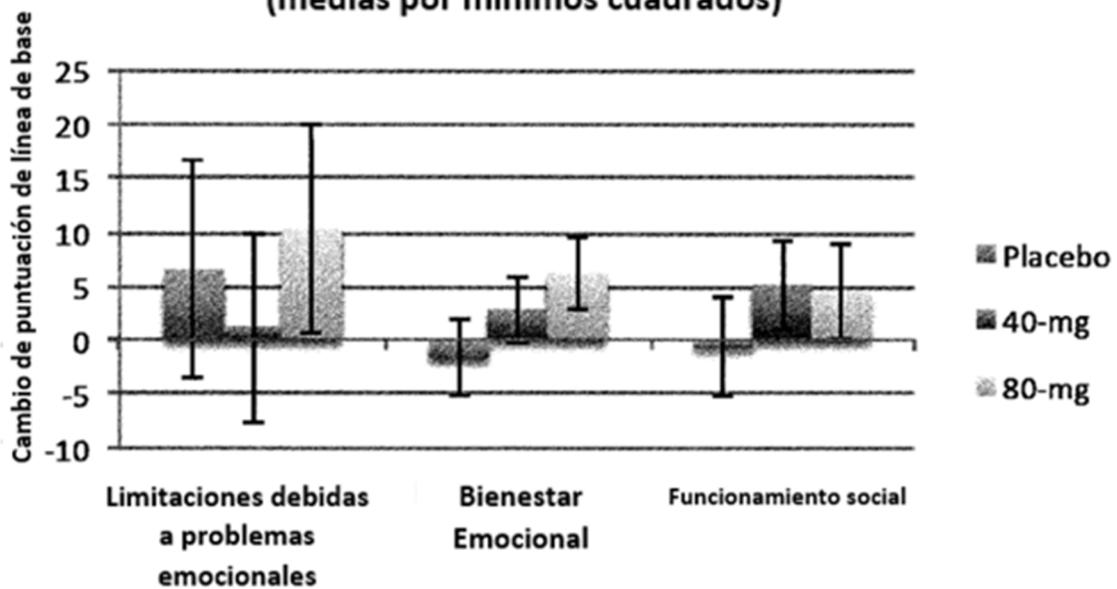


Figura 2A

Cuestionario de dificultad para caminar  
Población FAS (medias por mínimos cuadrados)

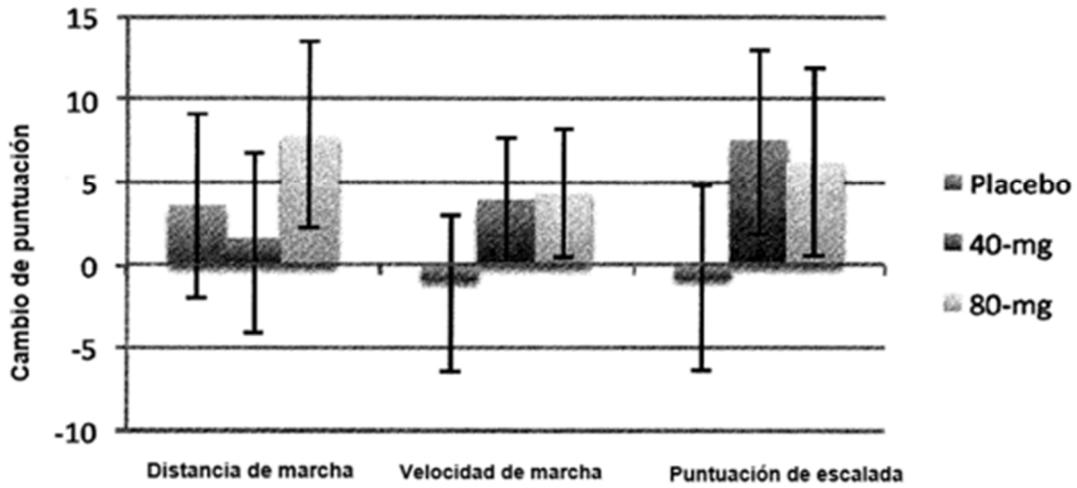


Figura 2B

Cuestionario de dificultad para caminar  
Población diabética (medias por mínimos cuadrados)

