(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 748 633**

(51) Int. CI.:

A61K 45/06	(2006.01)	***A61P 25/06***	(2006.01)
A61K 31/496	(2006.01)	***A61P 25/18***	(2006.01)
A61K 31/381	(2006.01)		
A61K 31/4545	(2006.01)		
A61K 31/506	(2006.01)		
A61K 31/437	(2006.01)		
A61K 9/48	(2006.01)		
A61K 31/4015	(2006.01)		
A61P 25/02	(2006.01)		
A61P 25/08	(2006.01)		

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **20.01.2015 PCT/EP2015/051029**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **30.07.2015 WO15110435**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.01.2015 E 15700726 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.07.2019 EP 3096790**

(54) Título: **Combinaciones que comprenden moduladores alostéricos positivos del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 y su uso**

(30) Prioridad:

21.01.2014 US 201461929795 P
04.02.2014 EP 14153887
04.02.2014 EP 14153880
03.09.2014 EP 14183324
02.10.2014 EP 14187429
15.12.2014 US 201462091668 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.03.2020

(73) Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

(72) Inventor/es:

KLEIN, BRIAN, D;
LAVREYSEN, HILDE;
PYPE, STEFAN, MARIA, CHRISTIAAN;
TWYMAN, ROY, E;
VAN OSSELAER, NANCY, EULALIE, SYLVAIN;
WHITE, H., STEVEN;
CEUSTERS, MARC, ANDRÉ;
CID-NÚÑEZ, JOSÉ, MARIA;
TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS, AVELINO y
BONE, ROGER, FRANCIS

(74) Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

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

Combinaciones que comprenden moduladores alostéricos positivos del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 y su uso

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a combinaciones que comprenden un modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A").

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El término "epilepsia" describe una afección en la que una persona presenta convulsiones recurrentes debidas a un proceso subyacente crónico. La epilepsia se refiere a un fenómeno clínico más que a una sola entidad patológica, ya que existen muchas formas y causas de la epilepsia. Si se define la epilepsia como dos o más convulsiones no provocadas, se estima que la incidencia de la epilepsia está comprendida entre aproximadamente un 0.3 y un 0.5 por ciento para diferentes poblaciones en todo el mundo, estimándose la prevalencia de la epilepsia entre 5 y 10 personas de cada 1000.

Un paso esencial en la evaluación y la gestión de un paciente con una convulsión consiste en determinar el tipo de convulsión que ha tenido lugar. La característica principal que distingue las diferentes categorías de convulsiones consiste en si la actividad convulsiva es parcial (sinónimo de focal) o generalizada.

Las convulsiones parciales son aquellas en las que la actividad convulsiva se restringe a áreas concretas de la corteza cerebral. Si se mantiene la consciencia completamente durante la convulsión, se considera que las manifestaciones clínicas son relativamente simples y la convulsión se denomina convulsión parcial-simple. Si se ve afectada la consciencia, la convulsión se denomina convulsión parcial-compleja. Un subgrupo adicional importante comprende aquellas convulsiones que empiezan como convulsiones parciales y a continuación se dispersan de forma difusa en toda la corteza, que se conocen como convulsiones parciales con generalización secundaria.

Las convulsiones generalizadas implican regiones difusas del cerebro simultáneamente de manera bilateralmente simétrica. Las convulsiones de tipo pequeño mal o de ausencia se caracterizan por pérdidas breves y repentinas de la consciencia sin pérdida del control de la postura. Las convulsiones de ausencia atípicas normalmente incluyen una duración más prolongada de la pérdida de consciencia, un inicio y un cese menos abruptos y unos signos motores más evidentes que pueden incluir características focales o lateralizantes. Las convulsiones de tipo gran mal o tónico-clónicas generalizadas, que representan el tipo principal de convulsiones generalizadas, se caracterizan por un inicio abrupto, sin previo aviso. Normalmente, la fase inicial de la convulsión consiste en una contracción tónica de los músculos, dificultad para respirar y una intensificación significativa del tono simpático que provoca un incremento de la frecuencia cardíaca, la presión sanguínea y el tamaño de las pupilas. Después de 10-20 s, la fase tónica de la convulsión normalmente evoluciona hacia la fase clónica, producida por la superposición de periodos de relajación muscular sobre la contracción muscular tónica. Los periodos de relajación se incrementan progresivamente hasta el final de la fase ictal, que habitualmente no dura más de 1 min. La fase posictal se caracteriza por falta de respuesta, flacidez muscular y salivación excesiva, que puede provocar una respiración estridente y la obstrucción parcial de las vías respiratorias. Las convulsiones atónicas se caracterizan por una pérdida repentina del tono muscular postural que dura 1-2 s. Se pierde la consciencia momentáneamente, pero normalmente no se observa confusión posictal. Las convulsiones mioclónicas se caracterizan por una contracción muscular breve y repentina que puede implicar una parte del cuerpo o todo el cuerpo.

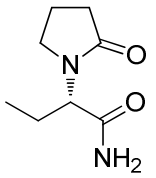
Se ha identificado la proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") como una diana anticonvulsiva de amplio espectro en modelos de epilepsia parcial y generalizada. Algunos estudios realizados en modelos con animales y tejido humano sugieren que ciertos cambios en la expresión de SV2A están relacionados con la epilepsia (para una revisión véase por ejemplo: (a) Mendoza-Torreblanca *et al*. "Synaptic vesicle protein 2A: basic facts and role in synaptic function" European Journal of Neuroscience 2013, págs. 1-11; (b) Kaminski RM, *et al*. "Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs". En: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA *et al*., editores. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [internet]. 4ª edición. Bethesda (MD): Centro Nacional para la Información Biotecnológica (EE. UU.); 2012. Disponible de: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/).

El papel exacto de SV2A permanece incierto pero estudios sugieren que cambios en la expresión de SV2A afectan a la función sináptica (Nowack *et al*. "Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A" PLoS One 2011, volumen 6 (12), e29560). También se ha sugerido que SV2A es un elemento clave en la exocitosis y está imlicada en la neurotransmisión (Crowder *et al*. "Abnormal neurotransmission in mice lacking synaptic vesicle protein 2A (SV2A)" Proc Nat Acad Sci USA 1999, 96, págs. 15268-15273) y estudios con ratones deficientes sugieren que la falta de SV2A da como resultado un desequilibrio entre neurotransmisión glutamatérgica y GABAérgica (Venkatesan *et al*. "Altered balance between excitatory and inhibitory inputs onto CA pyramidal neurons from SV2A-deficient but not SV2B-deficient mice" J Neurosci Res 2012, 90, págs. 2317-2327). La expresión disminuida de SV2A puede ser una consecuencia de actividad convulsiva y puede estar implicada en la evolución de la epilepsia (van Vliet *et al*. "Decreased expression of synaptic vesicle protein 2A, the binding site for levetiracetam,

during epileptogenesis and chronic epilepsy" Epilepsia 2009, 50, págs. 422-433; Feng *et al*. "Down-regulation of synaptic vesicle protein 2A in the anterior temporal neocortex of patients with intractable epilepsy" J Mol Neurosci 2009, 39, págs. 354-359; Toering *et al*. "Expression patterns of synaptic vesicle protein 2A in focal cortical dysplasia and TSC-cortical tubers" Epilepsia 2009, 50, págs. 1409-1418) y epileptogénesis en pacientes con tumores cerebrales (de Groot *et al*. "Expression of synaptic vesicle protein 2A in epilepsy-associated brain tumors and in the peritumoral cortex" Neuro-Oncology 2010, 12, págs. 265-273).

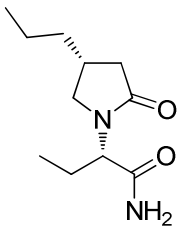
Los ligandos de SV2A incluyen levetiracetam (Lynch *et al*. "The synaptic vesicle protein SV2A is the binding site for the antiepileptic drug levetiracetam" Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2004, vol. 101, págs. 9861-9866), brivaracetam y seletracetam (Kaminski RM, *et al*. "Targeting SV2A for Discovery of Antiepileptic Drugs". En: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA *et al*., editores. Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies [internet]. 4ª edición. Bethesda (MD): Centro Nacional para la Información Biotecnológica (EE. UU.); 2012. Disponible de: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98183/; Nowack *et al*. "Levetiracetam reverses synaptic deficits produced by overexpression of SV2A" PLoSone, diciembre de 2011, vol. 6(12), e29560).

El levetiracetam, (-)-(S)-α-etil-2-oxo-1-pirrolidinacetamida o (S)-2-(2-oxopirrolidin-1-il)butanamida,



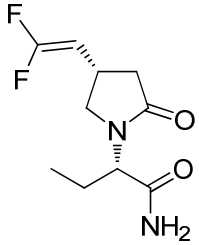
es un fármaco contra la epilepsia. No ha mostrado ninguna actividad en modelos agudos tradicionales (pruebas de convulsiones con pentilenotetrazol y por electrochoque máximo), pero se ha encontrado que es potente en modelos de epilepsia crónica y en modelos genéticos de epilepsia generalizada. Ha mostrado un margen de seguridad elevado en comparación con otros fármacos contra la epilepsia (Klitgaard “Levetiracetam: the preclinical profile of a new class of antiepileptic drugs” Epilepsia 2001, 42 (Suplemento 4), págs. 13-18). Se comercializa con la marca Keppra®, disponible en forma de comprimidos, como disolución oral y como un concentrado que se convierte en una disolución para infusión. Keppra® ha sido aprobado en Europa como monoterapia en pacientes de más de 16 años de edad a los que se les ha diagnosticado epilepsia recientemente, en el tratamiento de convulsiones (ataques) de inicio parcial con o sin generalización secundaria y como una terapia adyuvante para su uso con otros fármacos contra la epilepsia en el tratamiento de convulsiones de inicio parcial con o sin generalización en pacientes de más de 1 mes de edad; convulsiones mioclónicas en pacientes de más de 12 años de edad con epilepsia mioclónica juvenil; y convulsiones tónico-clónicas generalizadas primarias en pacientes de más de 12 años de edad con epilepsia generalizada idiopática (www.ema.europa.eu). Keppra® también ha sido aprobado en los EE. UU. como terapia adyuvante para el tratamiento de convulsiones de inicio parcial en pacientes de más de 1 mes de edad; convulsiones mioclónicas en pacientes de 12 años de edad y mayores con epilepsia mioclónica juvenil; y convulsiones tónico-clónicas generalizadas primarias en pacientes de 6 años de edad y mayores con epilepsia generalizada idiopática. Keppra XR®, disponible en forma de comprimidos de liberación prolongada, ha sido aprobado en los EE. UU. para el tratamiento adyuvante de convulsiones de inicio parcial en pacientes de 16 años de edad y mayores con epilepsia (http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/drugsatfda/index.cfm).

El brivaracetam, el análogo 4-n-propílico de levetiracetam, (2S)-2-[(4R)-oxo-4-propilpirrolidin-1-il]butanamida,



se encuentra en ensayos clínicos y está siendo investigado como monoterapia en convulsiones de inicio parcial y neuralgia posherpética, y como terapia adyuvante en convulsiones de inicio parcial refractarias, la enfermedad de Unverricht-Lundborg en adolescentes y adultos y en epilepsia fotosensible (www.clinicaltrials.gov).

El seletracetam, (2S)-2-[(4S)-4-(2,2,-difluorovinil)-2-oxo-pirrolidin-1-il]butanamida,



se ha sometido a prueba en ensayos clínicos.

En la bibliografía se describen procedimientos para preparar los tres compuestos. Por ejemplo, en los documentos EP 0 162 036 y GB 2 225 322 se describen procesos para preparar levetiracetam. En el documento WO 01/62726, por ejemplo, se describe un proceso para la preparación de brivaracetam. A partir del documento WO2005/121082, por ejemplo, se conoce un proceso para la preparación de seletracetam. En el documento EP1806339 se describen procesos alternativos para preparar los tres compuestos.

Los fármacos contra la epilepsia han encontrado utilidad en trastornos neurológicos y psiquiátricos, que incluyen dolor neuropático, migraña, temblores esenciales, y en ansiedad, esquizofrenia y trastorno bipolar (Landmarck "Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders. Relations between mechanisms of action and clinical efficacy" CNS Drugs 2008, vol. 22(1), págs. 27-47; Calabresi *et al*. "Antiepileptic drugs in migraine: from clinical aspects to cellular mechanisms" Trends in Pharmacological Sciences 2007, vol. 28(4), págs. 188-195; Rogawski y Löscher "The neurobiology of antiepileptic drugs for the treatment of nonepileptic conditions" Nat Med 2004, vol. 10, págs. 685-692).

Se ha encontrado que levetiracetam es eficaz o potencialmente eficaz en una amplia gama de trastornos neuropsiquiátricos, que incluyen trastornos del estado de ánimo (Muralidharan y Bhagwagar "Potential of levetiracetam in mood disorders: a preliminary review" CNS Drugs 2006, vol. 20, págs. 969-979; Mula *et al*. "The role of anticonvulsant drugs in anxiety disorders: a critical review of the evidence" J Clin Pshycopharmacol 2007, vol. 27, págs. 263-272), trastornos de ansiedad (Kinrys *et al*. "Levetiracetam as adjunctive therapy for refractory anxiety disorders" J Clin Psychiatry 2007, vol. 68, págs. 1010-1013; Zhang *et al*. "Levetiracetam in social phobia: a placebo controlled pilot study" J Psychopharmacol 2005, vol. 19, págs. 551-553; Kinrys *et al*. "Levetiracetam for treatment-refractory posttraumatic stress disorder" J Clin Psychiatry 2006, vol. 67, págs. 211-214), dolor (Enggaard *et al*. "Specific effect of levetiracetam in experimental human pain models" Eur J Pain 2006, vol. 10, págs. 193-198; Dunteman "Levetiracetam as an adjunctive analgesic in neoplastic plexopathies: case series and commentary" J Pain Palliative Care Pharmacother 2005, vol. 19, págs. 35-43; Price "Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies" Clin J Pain 2004, vol. 20, págs. 33-36), trastornos del movimiento (Bushara *et al*. "The effect of levetiracetam on essential tremor" Neurology 2005, vol. 64, págs. 1078-1080; McGavin *et al*. "Levetiracetam as a treatment for tardive dyskinesia: a case report" Neurology 2003, vol. 61, págs. 419; Woods *et al*. "Effects of levetiracetam on tardive dyskinesia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study" J Clin Psychiatry 2008, vol. 69, págs. 546-554; Zivkovic *et al*. "Treatment of tardive dyskinesia with levetiracetam in a transplant patient" Acta Neurol Scand 2008, vol. 117, págs. 351-353; Striano *et al*. "Dramatic response to levetiracetam in post-ischaemic Holmes' tremor" J Neurol Neurosurg Psychiatry 2007, vol. 78, págs. 438-439) y se sospecha que muestra efectos potencialmente beneficiosos en la función cognitiva (Piazzini *et al*. "Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial epilepsy" Epilepsy Research 2006, vol. 68, págs. 181-188; de Groot *et al*. "Levetiracetam improves verbal memory in high-grade glioma patients" Neuro-oncology 2013, vol. 15(2), págs. 216-223; Bakker *et al*. "Reduction of hippocampal hyperactivity improves cognition in amnestic mild cognitive impairment" Neuron 2012, vol. 74, págs. 467-474; para una revisión: Eddy *et al*. "The cognitive impact of antiepileptic drugs" Ther Adv Neurol Disord 2011, vol. 4(6), págs. 385-407 y las referencias citadas en el mismo; Wheless "Levetiracetam in the treatment of childhood epilepsy" Neuropsychiatric Disease and Treatment 2007, vol. 3(4), págs. 409-421) y los síntomas de comportamiento en la demencia (Dolder y Nealy "The efficacy and safety of newer anticonvulsants in patients with dementia" Drugs Aging 2012, vol. 29(8), págs. 627-637). Los datos de estudios con animales y algunos ensayos clínicos preliminares sugieren que levetiracetam puede presentar cierto potencial para restringir la epilepsia postraumática, tal como la provocada por un estado epiléptico, una lesión cerebral traumática y un accidente cerebrovascular isquémico, y al parecer presenta efectos neuroprotectores. El potencial de levetiracetam para aliviar la epileptogénesis o disfunción cognitiva todavía no ha sido demostrado mediante estudios clínicos y con animales concluyentes (para revisiones: Löscher y Brandt "Prevention or modification of epileptogenesis after brain insults: experimental approaches and translational research" Pharmacol Rev 2010, vol. 62, 668-700; Shetty "Prospects of levetiracetam as a neuroprotective drug against status epilepticus, traumatic brain injury and stroke" Front. Neur. 2013, 4:172. Doi: 10.3389/fneur.2013.00172) pero ha presentado actividad antiepileptogénica en el modelo de estimulación en ratas y ratones. También se ha sugerido que levetiracetam inhibe la liberación de glutamato (Lee *et al*. "Levetiracetam inhibits glutamate transmission through presynaptic P/Q-type calcium channels on the granule cells of the dentate gyrus" British Journal of Pharmacology 2009, vol. 158, págs. 1753-1762).

Se ha encontrado que seletracetam y brivaracetam reducen la gravedad de distonía en el modelo de hámster mutante dt^{sz} y pueden ser útiles en algunos pacientes que padecen trastornos del movimiento discinéticos y distónicos (Hamann *et al*. "Brivaracetam and seletracetam, two new SV2A ligands, improve paroxysmal dystonia in

the dt^{sz} mutant hamster" European Journal of Pharmacology 2008, vol. 601, págs. 99-102).

Los moduladores alostéricos positivos de mGluR2 han surgido recientemente como estrategias terapéuticas novedosas prometedoras para el tratamiento de varios trastornos del SNC, incluyendo la epilepsia, y algunos PAM de mGluR2 están sometiéndose actualmente a ensayos clínicos para el tratamiento de esquizofrenia y ansiedad-depresión (www.clinicaltrials.gov, véase por ejemplo: JNJ-40411813/ADX71149 por Addex Therapeutics y Janssen Pharmaceuticals, Inc.). La sugerencia inicial de que los fármacos que reducen la transmisión glutamatérgica pueden ser eficaces en el tratamiento de la epilepsia procede de estudios no clínicos agudos con agonistas de receptores mGlu2/3 mixtos (Moldrich *et al*. "Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy" Eur J Pharmacol. 2003, vol. 476, págs. 3-16). Se encontró que LY379268 y LY389795, dos agonistas de receptores mGlu2/3, eran ineficaces bloqueando convulsiones MES hasta dosis que producían alteración motora pero se encontraron eficaces en el modelo de 6 Hz de una manera dependiente de la dosis (Barton *et al*. "Comparison of the effect of glutamate receptor modulators in the 6 Hz and maximal electroshock seizure models" Epilepsy Research 2003, vol. 56, págs. 17-26). La administración continuada de un agonista de mGlu2/3 indujo, paradójicamente, actividad convulsiva en estudios de toxicología a largo plazo (Dunayevich *et al*. "Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder" Neuropsychopharmacology. 2008, vol. 33(7), págs. 1603-10). Este efecto paradójico podría estar relacionado con cambios inducidos por el agonista en la sensibilidad del sistema receptor (taquifilaxia), pero sin embargo no se ha notificado en modelos preclínicos de epilepsia. En cambio, los moduladores alostéricos positivos modulan la neurotransmisión en curso pero no son directamente estimulantes, con lo que se reduce el riesgo de taquifilaxia.

Antes de la actividad convulsiva, se registran aumentos de glutamato extracelular en el hipocampo humano y el aumento se sostiene durante la actividad epileptogénica (During y Spencer “Extracellular hippocampal glutamate and spontaneous seizure in the conscious human brain” Lancet 1993, vol. 341(8861), págs. 1607-10), lo que respalda la idea de que una reducción de los niveles de glutamato podría ser beneficiosa para el tratamiento de la epilepsia. De hecho, durante la actividad convulsiva, los niveles de glutamato aumentan hasta niveles potencialmente neurotóxicos. La actividad convulsiva da como resultado daños estructurales progresivos en el cerebro humano induciendo anomalías adicionales en el metabolismo de glutamato (Petroff *et al*. "Glutamate-glutamine cycling in the epileptic human hippocampus" Epilepsia 2002, vol. 43(7), págs. 703-10). Por tanto, puede esperarse que un modulador alostérico positivo de mGluR2 o un agonista ortostérico de mGluR2 ofrezcan protección contra los daños neurológicos inducidos por las convulsiones.

Los documentos WO2009/033704 y WO2010/130424 dan a conocer moduladores alostéricos positivos de mGluR2, usos de los mismos y procedimientos para sintetizar los compuestos. Los documentos WO1997/18199 y WO2003/104217 dan a conocer compuestos de modulador de receptor de aminoácido excitatorios que más tarde mostraron tener actividad de agonista ortostérico de mGlu2/3 (véase por ejemplo Rorick-Kehn *et al*. (2007) The Journal of Pharmacology and Experimental therapeutics vol. 321, n.º 1, págs. 308-317), la bibliografía de patentes y científica adicional da a conocer ejemplos adicionales de compuestos que tienen actividad de agonista ortostérico de mGlu2/3, y el documento WO2008/150233 da a conocer compuestos con actividad de activador alostérico de mGluR2.

Myhrer, T. et al. “Capacities of metabotropic glutamate modulators in counteracting soman-induced seizures in rats” Eur. J. Pharmacol. 718 (2013) 253-260 divulga el efecto de combinaciones de DCG-IV contra convulsiones inducidas por somano en ratas. Si bien la combinación de HI-6 y prociclidina con DCG-IV mostró eficacia como antídoto, la combinación de HI-6 y levetiracetam con DCG-IV no cesó las convulsiones ni preservó vidas, y la eficacia como antídoto observada fue inferior.

Klitgaard, H. “Antiepileptic drug Discovery: lessons from the past and future challenges” Acta Neurol Scand 2005: 112 (Suppl. 181): 68-72 proporciona un breve contexto histórico sobre la investigación de fármacos antiepilépticos, y describe el descubrimiento de levetiracetam y la posterior identificación de brivaracetam y seletracetam, que tiene un perfil de actividad anticonvulsiva único y potencialmente un mejor perfil de seguridad en comparación con las terapias existentes.

Piazzini et al. “Levetiracetam: An improvement of attention and of oral fluency in patients with partial epilepsy” Epilepsy Research 2006, Vol. 68, págs. 181-188 divulga resultados preliminares que muestran una mejora cognitiva significativa en la atención y la fluidez oral en los pacientes diagnosticados con epilepsia parcial resistente a fármacos que reciben levetiracetam como terapia complementaria en comparación con los controles.

Johannessen Landmark, C and Johannessen, S. I. “Modifications of Antiepileptic Drugs for Improved Tolerability and Efficacy” Perspect Medicin Chem 2008:2 21-39 divulga una revisión sobre productos de investigación y fármacos de diseño y comercializados en desarrollo en 2008, incluido levetiracetam.

Price, M.J. “Levetiracetam in the treatment of neuropathic pain: three case studies” Clin J Pain 2004, Vol. 20, págs. 33-36 describe tres estudios de un caso de pacientes que presentan dolor neuropático que responden favorablemente al tratamiento con levetiracetam, sin eventos adversos importantes.

El documento WO 01/39779 (UCB, S.A) divulga el uso de levetiracetam en trastornos que incluyen migraña,

trastornos bipolares y dolor crónico o neuropático solo o combinado con compuestos que incluyen inhibición neural mediada por receptores $GABA_A$.

El documento EP 2 462 990 (UCB Pharma GmbH) describe una composición farmacéutica que comprende lacosamida y levetiracetam para la prevención, alivio y/o tratamiento de convulsiones epilépticas.

El documento WO 2014/078568 (Univ Johns Hopkins) se refiere a grandes rasgos a métodos para tratar la esquizofrenia o el trastorno bipolar administrando una combinación de un inhibidor de una proteína de la vesícula sináptica 2A y un antipsicótico. Los ejemplos divulgan, sin embargo, levetiracetam, brivaracetam o valproato en estudios relacionados con la cognición (aprendizaje espacial y retención de memoria, ensayos en pacientes con afectación cognitiva amnésica leve).

Los fármacos contra la epilepsia disponibles actualmente no afectan únicamente a la transmisión glutamatérgica. Su mecanismo de acción se concibe en general como una alteración del equilibrio entre la transmisión de estímulos excitatorios (mediada por glutamato) y la transmisión de estímulos inhibidores (mediada por GABA) (Johannessen Landmark “Antiepileptic drugs in non-epilepsy disorders: relations between mechanisms of action and clinical efficacy” CNS Drugs 2008, Vol. 22(1), págs. 27-47).

Un factor limitante significativo para el uso de ligandos de SV2A es la tolerabilidad y el perfil de efectos secundarios. Por ejemplo, la dosis eficaz de levetiracetam para convulsiones de inicio parcial es de 1000 mg, 2000 mg y 3000 mg, administrada dos veces al día. Los efectos secundarios descritos para levetiracetam incluyen un comportamiento irritable o agresivo, ansiedad, cambios de personalidad, escalofríos, tos o ronquera, llantos, despersonalización, diarrea, sequedad bucal, euforia, fiebre, sensación general de malestar o enfermedad, cefalea, hiperventilación, latidos del corazón irregulares, irritabilidad, dolor de las articulaciones, pérdida de apetito, lumbalgia o dolor de los costados, depresión mental, dolores y picores musculares, náusea, dolor o dificultad al orinar, paranoia, reacciones rápidas o desmesuradas a nivel emocional, cambios rápidos del estado de ánimo, inquietud, temblores, estremecimientos, dificultad para respirar, insomnio o somnolencia inusual, dolor de garganta, congestión o secreción nasal, sudores, problemas para conciliar el sueño, cansancio o debilidad inusual y vómitos. Por lo tanto, sigue siendo necesario disponer de un tratamiento eficaz con una dosis eficaz de levetiracetam más baja y un perfil de efectos secundarios más favorable para el tratamiento de la epilepsia y trastornos relacionados, no solamente en la población adulta sino también en la pediátrica.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1: Respuesta a la dosis para la determinación de DE_{50} a 6 Hz, 44 mA para el comp. n.º **2** y LEV solo y en combinación.

Figura 2: Análisis isobolográfico para la combinación del comp. n.º **1** con levetiracetam (LEV) in el ensayo de 6 Hz (44 mA). Se determinaron los valores iniciales de DE_{50} (mostrados a continuación) tanto para el comp. n.º **1** como para LEV (puntos de datos sobre ejes x e y; rombos rellenos). La línea teórica de aditividad conecta los valores de DE_{50} calculados para los dos compuestos (línea continua negra). Se representan gráficamente los DE_{50} teóricos (+ EEM) para las tres combinaciones de razón de dosis fija (LEV: comp. n.º **1**): 1:3 – cuadrados rellenos/línea continua negra, 1:1 – triángulos hacia arriba rellenos/línea continua negra, y 3:1 – triángulos hacia abajo rellenos/línea continua negra. Inicialmente se derivaron las dosis de tratamiento experimentales de valores teóricos y se ajustaron según los efectos observados. También se muestran valores de DE_{50} (+ EEM) determinados experimentalmente para cada combinación de razón de dosis fija: 1:3' – cuadrados vacíos/línea de puntos, 1:1' – triángulos hacia arriba vacíos/línea de puntos, y 3:1' – triángulos hacia abajo vacíos/línea de puntos. Se compararon comparaciones entre valores de DE_{50} determinados experimentalmente y teóricos usando la prueba de la t (***P<0.001). N=8 por groupo. En la figura 2, se representa la razón de LEV con respecto al comp. n.º **1** como sigue:

Razón de LEV: comp. n.º **1**		
■	1:3	DE_{50} (LEV) = 345 mg/kg (211-485) (por vía intraperitoneal, i.p.)
▲	1:1	DE_{50} (Comp. n.º **1**) = 10.2 mg/kg (3.1-12.4) (s.c.)
▼	3:1	
--□--	1:3'	
--△--	1:1'	
--▽--	3:1'	

Figura 3: Estudios de combinación para el comp. n.º **25-a** con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). A una dosis de 10 mg/kg s.c., el comp. n.º **25-a** aumenta la potencia de LEV, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 70 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva.

Figura 4: Estudios de combinación para el comp. n.º **2-a** con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). A una dosis de 10 mg/kg s.c., el comp. n.º **2-a** aumenta la potencia de LEV, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 35 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva.

Figura de referencia 5: Estudios de combinación para el comp. n.º **6-b** con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). A una dosis de 10 mg/kg p.o., el comp. n.º **6-b** aumenta la potencia de LEV, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 100 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva.

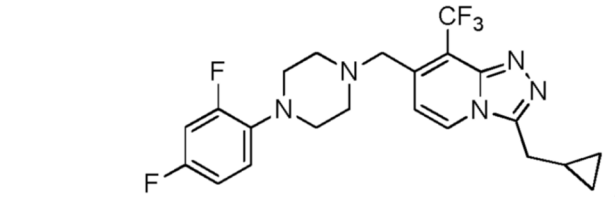
Figura de referencia 6: Estudios de combinación para LY-404039 con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). A una dosis de 5 mg/kg s.c., LY-404039 aumenta la potencia de LEV, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 27 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva.

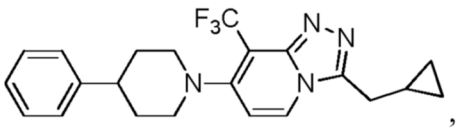
DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

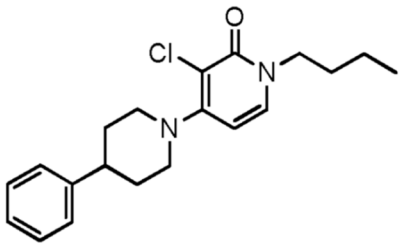
La presente invención se refiere a una combinación que comprende

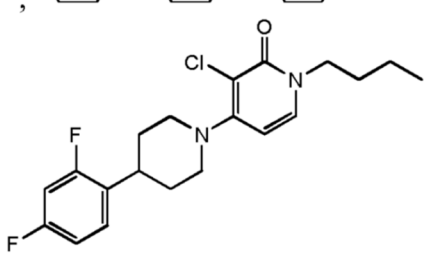
(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es



,


,


, o


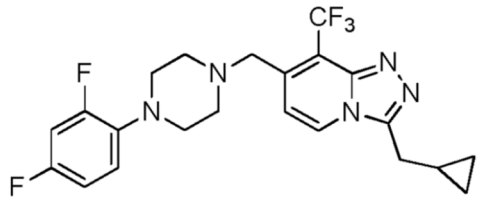
,

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

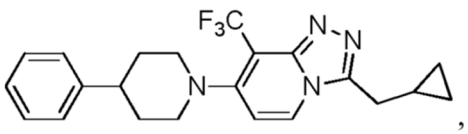
En una realización particular, la invención tal como se describe en la presente se refiere a una combinación farmacéutica, en particular a un producto farmacéutico combinado, que comprende

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

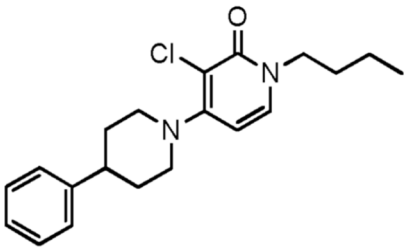
(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es



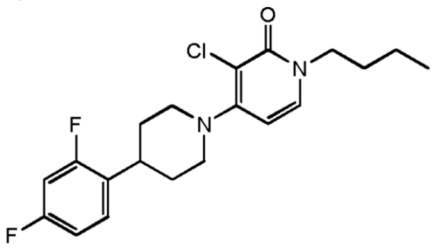
,



,



, o



,

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo; y

(c) al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la invención se refiere a la combinación descrita en la presente para su uso como medicamento.

Una realización adicional de esta invención se refiere al uso de la combinación descrita en la presente para la elaboración de un medicamento o un producto farmacéutico para el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente y trastornos bipolares y trastornos relacionados.

Adicionalmente, se da a conocer el uso de la combinación descrita en la presente para la elaboración de un medicamento o un producto farmacéutico para la neuroprotección.

Una realización adicional de esta invención se refiere al uso de la combinación descrita en la presente para la elaboración de un medicamento o un producto farmacéutico para la prevención de la epileptogénesis.

Una realización adicional se refiere a la combinación para su uso en el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; y trastornos bipolares y trastornos relacionados de un sujeto que comprende administrar de forma concurrente o secuencial al sujeto que lo necesita un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A (“SV2A”) según se define en la presente; y un compuesto de modulador alostérico positivo (“PAM”) del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 (“mGluR2”) o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo según se define en la presente, en cantidades que serían terapéuticamente eficaces cuando el ligando de SV2A y el compuesto de mGluR2 se administran conjuntamente.

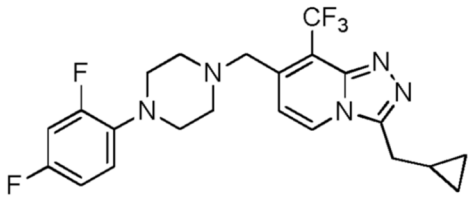
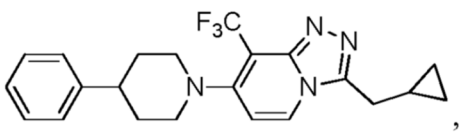
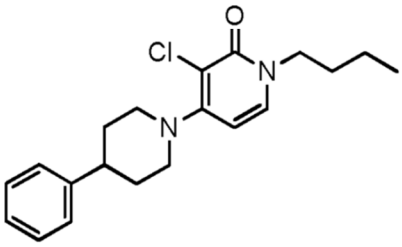
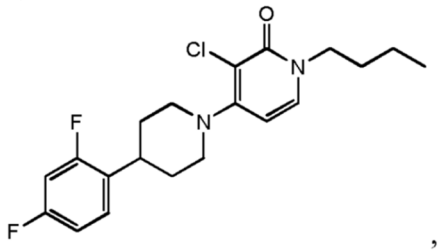
Adicionalmente, se da a conocer una combinación tal como se describe en la presente para la neuroprotección; o a una combinación tal como se describe en la presente para su uso en la neuroprotección.

Una realización adicional se refiere a una combinación tal como se describe en la presente para la prevención de la epileptogénesis; o a una combinación tal como se describe en la presente para su uso en la prevención de la epileptogénesis.

En una realización adicional, la invención se refiere a una combinación para su uso en un método para tratar o prevenir la epilepsia y trastornos relacionados, dolor neuropático, migraña o cefalea resistente, trastornos bipolares y trastornos relacionados en pacientes, que comprende administrar una combinación de dosis fija de

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A (“SV2A”) seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo (“PAM”) del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 (“mGluR2”) en donde el compuesto es

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

en cantidades que serían terapéuticamente eficaces cuando el ligando de SV2A y el compuesto de tipo mGluR2 se administran conjuntamente.

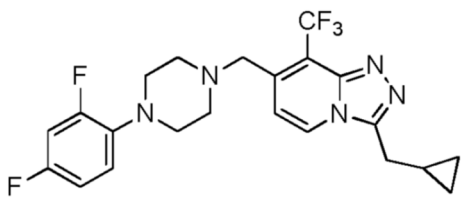
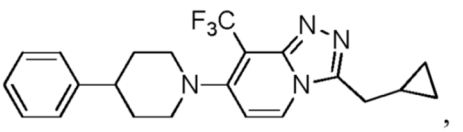
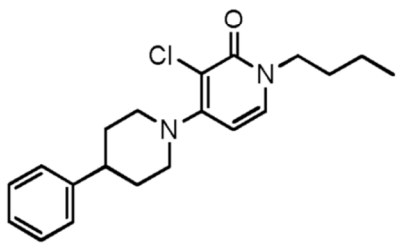
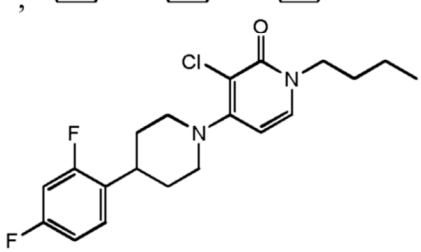
Una divulgación adicional se refiere a un método de neuroprotección con una combinación según se define en la presente.

Una divulgación adicional se refiere a un método contra la epileptogénesis con una combinación según se define en la presente.

Una realización adicional se refiere a una combinación para su uso en un método para el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; trastornos bipolares y trastornos relacionados, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación o un producto de combinación que comprende

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es

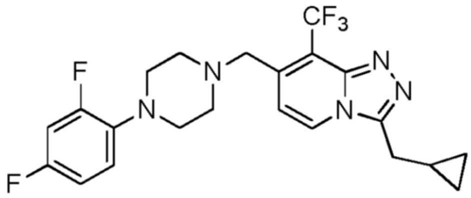
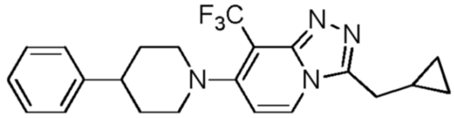
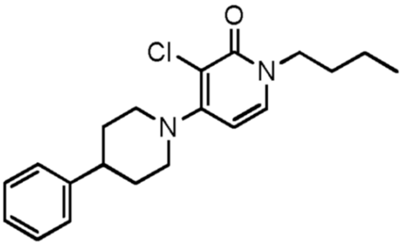
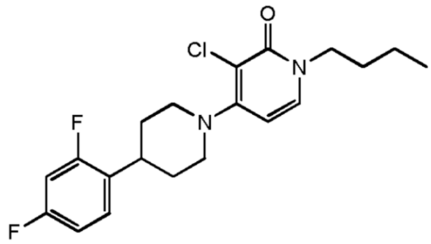
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

a un sujeto que lo necesita, tal como un animal de sangre caliente, en particular un ser humano.

Una divulgación adicional se refiere a un método de neuroprotección, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación o un producto de combinación que comprende

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es


,

,

, o

,

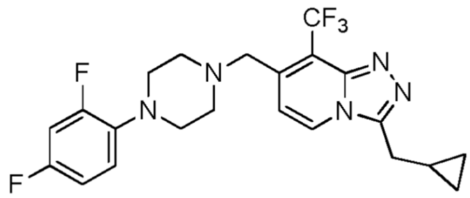
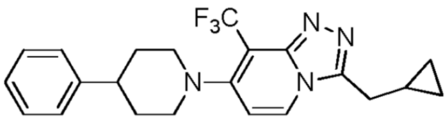
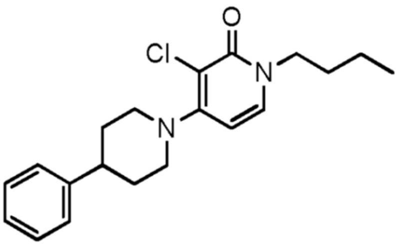
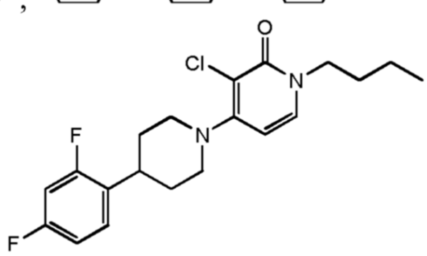
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

a un sujeto que lo necesita, tal como un animal de sangre caliente, en particular un ser humano.

Una realización adicional se refiere a una combinación para su uso en un método contra la epileptogénesis, comprendiendo dicho método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación o un producto de combinación que comprende

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es


,

,

, o

,

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

a un sujeto que lo necesita, tal como un animal de sangre caliente, en particular un ser humano.

En una realización adicional, la presente invención se refiere a un producto farmacéutico o un envase comercial que comprende una combinación según la invención tal como se describe en la presente, en particular junto con instrucciones, para su uso simultáneo, secuencial o por separado en el tratamiento o la prevención de la epilepsia y trastornos relacionados; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; trastornos bipolares y trastornos relacionados.

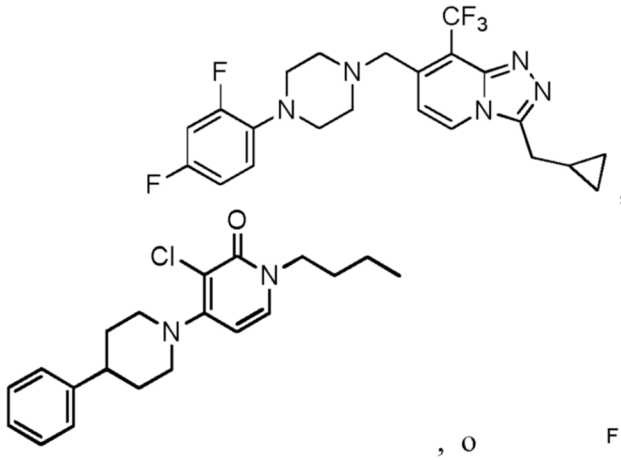
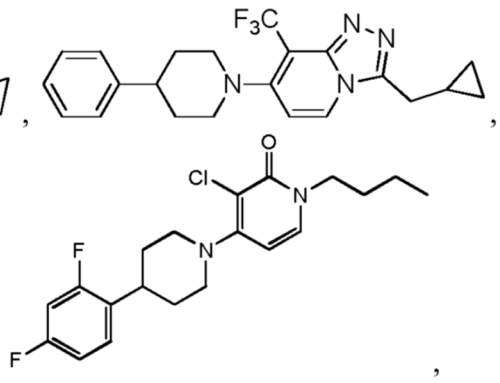
Una divulgación adicional se refiere a un producto farmacéutico o un envase comercial que comprende una combinación según la invención tal como se describe en la presente, en particular junto con instrucciones, para su uso simultáneo, secuencial o por separado en la neuroprotección.

En una realización adicional, la presente invención se refiere a un producto farmacéutico o un envase comercial que comprende una combinación según la invención tal como se describe en la presente, en particular junto con instrucciones, para su uso simultáneo, secuencial o por separado contra la epileptogénesis.

En una realización adicional, la invención se refiere a una combinación que comprende una cantidad que es de manera conjunta terapéuticamente eficaz contra la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; trastornos bipolares y trastornos relacionados; de

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es

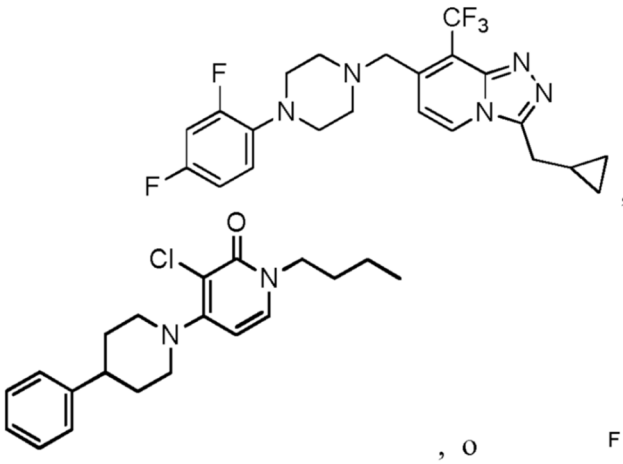
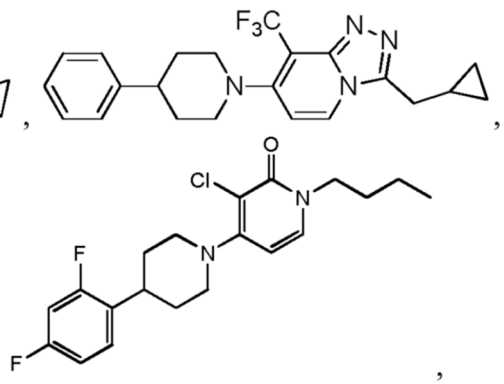

, o

,

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la invención se refiere a una combinación que comprende una cantidad que es de manera conjunta terapéuticamente eficaz como neuroprotector, de

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es


, o

,

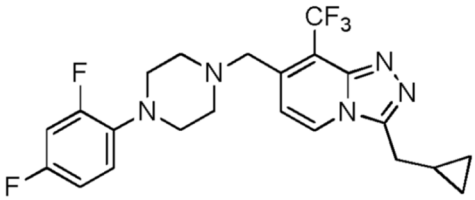
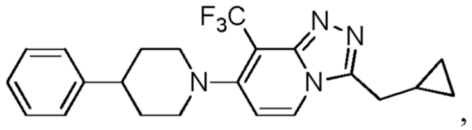
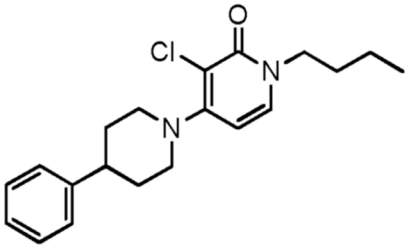
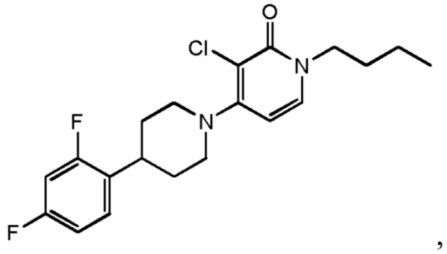
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la invención se refiere a una combinación que comprende una cantidad que es de

manera conjunta terapéuticamente eficaz en la prevención de la epileptogénesis, de

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es

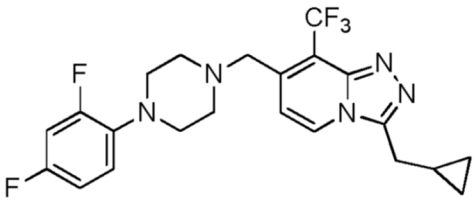
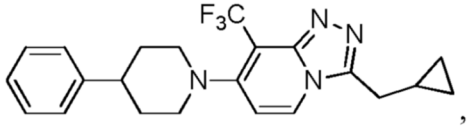
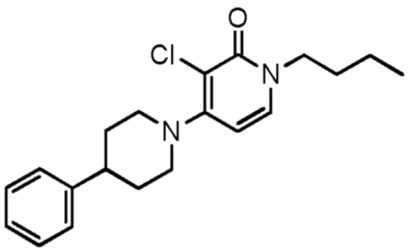
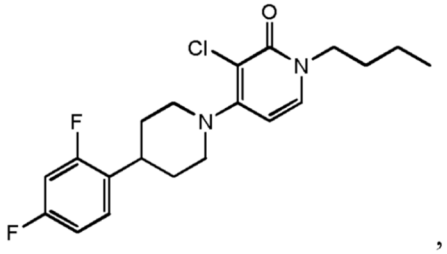





o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un portador farmacéuticamente aceptable.

En una realización adicional, la invención se refiere al uso de

(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

(b) un compuesto de modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") en donde el compuesto es

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo,

para la preparación de un producto de combinación según la presente invención.

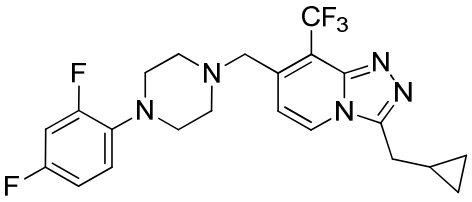
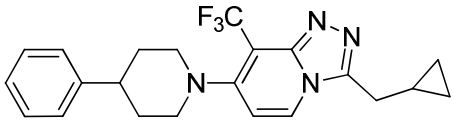
Los componentes (b) de la combinación de la invención se denominan en general en la presente "compuestos de mGluR2" o "compuestos de PAM de mGluR2", o "compuesto de modulador alostérico positivo de mGluR2" lo que significa que los compuestos tienen principalmente actividad en el receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2, y en particular se seleccionan de moduladores alostéricos positivos (PAM) del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2. Un experto en la técnica estará familiarizado con la gran homología de mGluR2 y mGluR3, a la que se debe que algunos agonistas ortostérico de mGluR2 también muestren actividad como agonistas ortostéricos de mGluR3. Tal es el caso por ejemplo, del ácido (-)-(1R,4S,5S,6S)-4-amino-2-sulfonilbiciclo[3.1.0]-

hexano-4,6-dicarboxílico (también conocido como LY-404,039 [CAS 635318-11-5]), con un K_i = 149 nM (receptor de mGlu2) y K_i = 92 nM (receptor de mGlu3), selectividad de 100 vaces para mGlu2 y mGlu3 con respecto a mGlu4a, -6, -7a, y -8a, y sin actividad en mGlu1a y mGlu5a (Rorick-Kehn *et al*. (2007) The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics vol. 321, n.º 1, págs. 308–317). El término "compuestos de mGluR2" o "PAM de mGluR2", o "compuesto de modulador alostérico positivo de mGluR2" no excluye por tanto compuestos que muestren alguna otra actividad menor *in vitro* o *in vivo*.

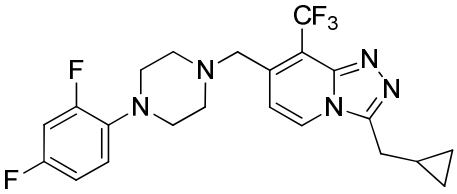
Los compuestos de PAM de mGluR2 de la combinación de la invención se seleccionan en particular de aquellos dados a conocer en el documento WO2010/130424.

Los compuestos dados a conocer en el documento WO2010/130424 pueden prepararse según los procedimientos descritos en ese documento.

Los compuestos particulares incluyen

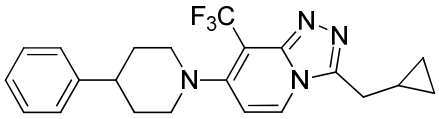
 **Comp. n.º 1**; o una sal de clorhidrato del mismo (**Comp. n.º 1a**)	 **Comp. n.º 2**; o una sal de clorhidrato del mismo (.HCl) (**Comp. n.º 2a**)

En una realización de la invención el compuesto de PAM de mGluR2 es



Comp. n.º 1; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente una sal de clorhidrato del mismo.

En una realización adicional de la invención el compuesto de PAM de mGluR2es

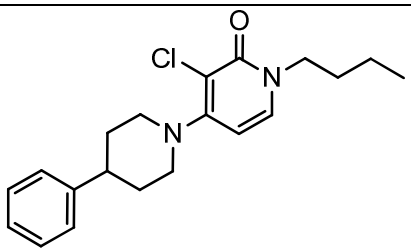
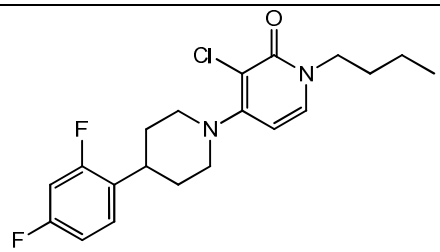


Comp. n.º 2; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente una sal de clorhidrato del mismo (.HCl).

Los compuestos de PAM de mGluR2 de la combinación de la invención también se seleccionan en particular de aquellos dados a conocer en el documento WO2009/033704.

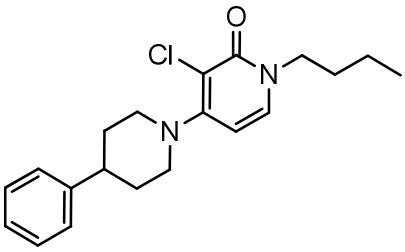
Los compuestos dados a conocer en el documento WO2009/033704 pueden prepararse según los pocedimientos descritos en ese documento.

Los compuestos particulares incluyen

	
Comp. n.º 2-a	**Comp. n.º 25-a**

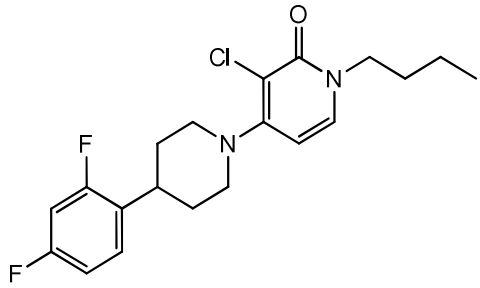
y los solvatos y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización de la invención, el compuesto de PAM de mGluR2 es



Comp. n.º 2-a

o



Comp. n.º 25-a,

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los nombres de los compuestos de la presente invención se generaron según las reglas de nomenclatura que se acordaron por el Chemical Abstracts Service (C.A.S.) usando el software (ACD/Name product, versión 10.01.0.14105, octubre de 2006) de Advanced Chemical Development, Inc. En el caso de formas tautoméricas, se generó el nombre de la forma tautomérica de la estructura representada. Sin embargo, debería aclararse que la otra forma tautomérica no representada también está incluida dentro del alcance de la presente invención.

Tal como se usa en la presente, y a menos que se indique lo contrario, el término "**agente contra la epilepsia**" y la abreviatura "AED", que corresponde a sus siglas en inglés, se emplearán de manera intercambiable con el término "**agente contra las convulsiones**" y tal como se usan en la presente, se refieren a un agente capaz de tratar, inhibir o prevenir la actividad convulsiva o ictogénesis cuando el agente se administra a un sujeto o paciente.

Tal como se usa en la presente, a menos que se indique lo contrario, el término "**ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A**" y la abreviatura "**ligando de SV2A**", se emplearán de manera intercambiable. Los ejemplos de ligandos de SV2A incluyen, pero no se limitan a, los compuestos incluidos en las publicaciones GB 1,039,113; GB 1,309,692; EP 1 262 036; EP 1 806 339; WO 2001/062726; US 2002/094787; WO 2004/087658; WO 2005/121082; WO 2005/054188; WO 2006/128692; WO 2006/128693; WO 2007/065595; WO 2008/132139, and WO 2008/132142; WO 2011/047860; WO 2012/143116; and WO 2012/143117. Ejemplos particulares adecuados de ligandos de SV2A incluyen, pero no se limitan a: levetiracetam, brivaracetam y seletracetam.

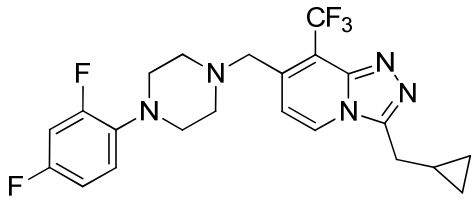
Por consiguiente, en una realización de la invención, el ligando de SV2A se selecciona de levetiracetam, brivaracetam y seletracetam.

En una realización particular, el ligando de SV2A es levetiracetam.

En una realización particular, el ligando de SV2A es brivaracetam.

Se conocen procedimientos para la preparación de los ligandos de SV2A anteriores a partir de la bibliografía y se describen, por ejemplo, en el documento EP 1 806 339; en el documento EP 0 162 036 y en el documento GB 2 225 322 (levetiracetam); en el documento WO 01/62726 (brivaracetam); y en el documento WO 2005/121082 (seletracetam).

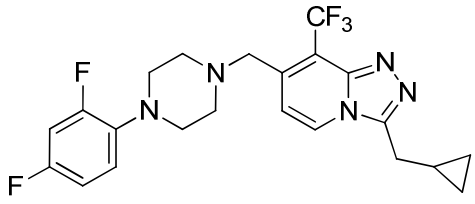
En una realización adicional, la combinación según la invención comprende (a) un ligando de SV2A seleccionado de levetiracetam o brivaracetam; y (b)



Comp. n.º 1

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente una sal de clorhidrato del mismo, o un solvato del mismo.

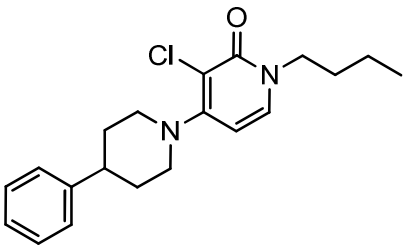
En una realización adicional, la composición farmacéutica según la invención comprende (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de levetiracetam o brivaracetam; y (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de



Comp. n.º 1

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, preferiblemente una sal de clorhidrato del mismo, o un solvato del mismo.

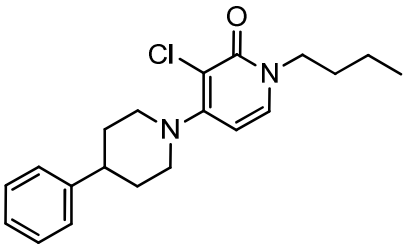
En una realización adicional, la combinación según la invención comprende (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de levetiracetam o brivaracetam; y (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de



(Comp. n.º 2-a)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

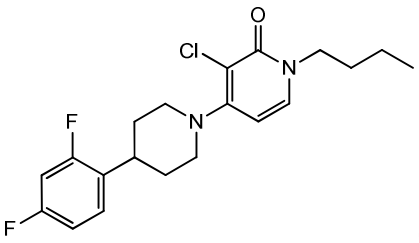
En una realización adicional, la composición farmacéutica según la invención comprende (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de levetiracetam o brivaracetam; y (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de



(Comp. n.º 2-a)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

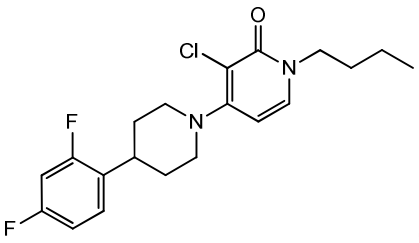
En una realización adicional, la combinación según la invención comprende (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de levetiracetam o brivaracetam; y (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de



(Comp. n.º 25-a)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización adicional, la composición farmacéutica según la invención comprende (a) una cantidad farmacéuticamente eficaz de levetiracetam o brivaracetam; y (b) una cantidad farmacéuticamente eficaz de



(Comp. n.º 25-a)

o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

El producto de combinación de la presente invención, en particular, la composición farmacéutica según la invención, es especialmente adecuado para el tratamiento de la epilepsia.

Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "**sales farmacéuticamente aceptables**" no tóxicas (sales de los compuestos de la presente invención en las que el contraión es farmacéuticamente aceptable). Sin embargo otras sales pueden ser útiles en la preparación o purificación de los compuestos según esta invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables, y pueden abarcar ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables. Todas las sales, ya sean farmacéuticamente aceptables o no, quedan incluidas dentro del ámbito de la presente invención.

Se pretende que las sales de adición de ácidos y bases farmacéuticamente aceptables tal como se mencionan anteriormente o a continuación en la presente comprendan las formas de sal de adición de ácidos y bases no tóxicas terapéuticamente activas que los compuestos de la invención pueden formar. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos incluyen sales de adición de ácidos que pueden formarse, por ejemplo, mezclando una disolución del compuesto con una disolución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos halogenados, p. ej. ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir etanodióico), malónico, succínico (es decir ácido butanodióico), maléico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoicos. A la inversa, dichas formas de sales pueden convertirse en la forma de base libre mediante tratamiento con una base adecuada. Además, cuando los compuestos de la invención portan un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden incluir bases orgánicas e inorgánicas. Las formas salinas de bases adecuadas comprenden, por ejemplo, las sales de amonio, las sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, p. ej., sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio, sales con bases orgánicas, p. ej., aminas primarias, secundarias y terciarias alifáticas y aromáticas tales como metilamina, etilamina, propilamina, isopropilamina, los cuatro isómeros de la butilamina, dimetilamina, dietilamina, dietanolamina, dipropilamina, diisopropilamina, di-n-butilamina, pirrolidina, piperidina, morfolina, trimetilamina, trietilamina, tripropilamina, quinuclidina, piridina, quinolina e isoquinolina; la benzatina, N-metil-D-glucamina, sales de hidrabamina y sales de aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina. A la inversa, la forma salina puede convertirse en la forma de ácido libre mediante tratamiento con ácido.

El término "**solvato**" comprende las formas de adición de disolventes, así como las sales de los mismos, que los compuestos de fórmula (I) pueden formar. Ejemplos de tales formas de adición de disolventes son, p. ej., hidratos, alcoholatos.

Tal como se usa en la presente, se pretende que el término "**composición**" abarque un producto que comprende los componentes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los componentes especificados en las cantidades especificadas.

Tal como se usa en la presente, el término "**sujeto**" se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente un ser humano adulto, niño o bebé, que es o que ha sido objeto de tratamiento, observación o experimentación.

El término "**cantidad terapéuticamente eficaz**", tal como se usa en la presente, significa la cantidad de compuesto o agente farmacéutico activo que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema tisular, animal o humano que busca un investigador, veterinario, médico u otro profesional sanitario, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno que está tratándose y/o la reducción de la gravedad de uno o más de los síntomas de la enfermedad que está tratándose.

La combinación de los compuestos (a) ligando de SV2A y (b) modulador alostérico positivo ("PAM") del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 ("mGluR2") o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se define en la presente tanto si los compuestos (a) and (b) se administran simultáneamente, por separado o de manera secuancial, puede ser beneficiosa en comparación con el efecto de los compuestos (a) o (b) administrados solos. En particular, se puede producir al menos un efecto beneficioso, p. ej., una mejora mutua del efecto de los compuestos (a) y (b), un efecto más que aditivo, en particular un efecto sinérgico; otros efectos beneficiosos incluyen, por ejemplo, una dosis eficaz significativamente reducida para la combinación de (a) y (b); un efecto terapéutico adicional no observado para ninguno de los compuestos (a) o (b) por sí solos, un perfil de efectos secundarios más beneficioso o un efecto terapéutico combinado con una dosis no eficaz de uno de los compuestos (a) y (b) o de ambos.

Tal como se usa en la presente, el término "**razón de dosis fija de (a) ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A con respecto a (b) compuesto de PAM de mGluR2 1 o 2 de 1:1, calculada con respecto a los valores de DE_{50} de los compuestos (a) y (b) individuales**" se refiere a composiciones que comprenden los compuestos (a) y (b) en una dosis que corresponde al 50% de la dosis de DE_{50} respectiva de los compuestos (a) y (b) individuales o un múltiplo de esta razón de dosis fija. El término "razón de dosis fija de (a) ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2A: (b) compuesto 1 o 2 de 3:1, calculada con respecto a los valores de DE_{50} de los compuestos (a) y (b) individuales" se refiere a composiciones que comprenden (b) el compuesto 1 o 2 en una dosis que corresponde al 75% de la dosis de DE_{50} respectiva y el compuesto (a) en una dosis que corresponde al 25% de la dosis de DE_{50} respectiva del compuesto (a) o un múltiplo de esta razón de dosis fija, y así sucesivamente.

Por tanto, en otra realización de la invención, (a) el ligando de SV2A y (b) el compuesto 1 o 2 están presentes en la composición farmacéutica a una razón de dosis fija de (a):(b) de aproximadamente 1:10 a aproximadamente 10:1, preferiblemente de aproximadamente 1:5 a aproximadamente 5:1, más preferiblemente de aproximadamente 1:3 a aproximadamente 3:1, en otra realización de aproximadamente 1:1 a aproximadamente 3:1; en una realización alternativa de 1:3; en aún otra realización de 1:1; realización adicional de 3:1; en las que la razón de dosis fija se calcula con respecto a los valores de DE_{50} de los compuestos (a) y (b) individuales.

Cuando la presente invención se refiera a la coterapia o terapia de combinación, que comprende la administración de (a) ligando de proteína de la vesícula sináptica 2A ("SV2A") y (b) un compuesto de PAM de mGluR2 tal como se define en la presente, cantidad farmacéutica o terapéuticamente eficaz significará la cantidad de la combinación de agentes tomados conjuntamente, de manera que el efecto combinado provoque la respuesta medicinal o biológica deseada. Por ejemplo, la cantidad terapéuticamente eficaz de una coterapia que comprende la administración de (a) un ligando de SV2A tal como se define en la presente y (b) compuesto de PAM de mGluR2 tal como se define en la presente sería la cantidad del (a) ligando de SV2A tal como se describe en la presente y la cantidad de (b) un compuesto de PAM de mGluR2 que cuando se administran conjuntamente o de manera secuencial tiene un efecto combinado que es terapéuticamente eficaz. Además, un experto en la técnica reconocerá que en el caso de coterapia con una cantidad terapéuticamente eficaz, como en el ejemplo anterior, la cantidad del compuesto de PAM de mGluR2 y/o la cantidad del ligando de SV2A adecuado puede ser o puede no ser, de manera individual, terapéuticamente eficaz.

La divulgación proporciona métodos de prevención o tratamiento que comprenden administrar a un sujeto que lo necesita una coterapia con una cantidad terapéuticamente eficaz de un ligando de SV2A y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de PAM de mGluR2 tal como se describe en la presente. Con el fin de lograr este objetivo, los compuestos o composiciones de esta invención deben utilizarse en la cantidad o dosis terapéuticamente eficaz correcta, tal como se describe a continuación.

Las dosis y los programas óptimos que deben administrarse pueden determinarse fácilmente por los expertos en la técnica y variarán dependiendo del compuesto particular usado, el modo de administración, la concentración de la preparación, el modo de administración y el avance del estado patológico. Además, factores asociados con el paciente particular que está tratándose, que incluyen edad del paciente, peso, dieta y tiempo de administración, darán como resultado la necesidad de ajustar las dosificaciones.

Un experto en la técnica reconocerá que una dosis terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente invención puede incluir dosis repetidas dentro de un régimen de tratamiento prolongado que proporcionará resultados clínicamente significativos.

Las cantidades del compuesto de PAM de mGluR2 en las combinaciones de la invención que se administran diariamente pueden variar de desde aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 2000 mg. Ejemplos de cantidades diarias del compuesto de PAM de mGlu2 son 0.01, 0.05, 0.1, 0.5, 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 25.0, 50.0, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500, 750 y 1000 miligramos para el ajuste sintomático de la dosis al paciente que va a

tratarse. Una cantidad eficaz del fármaco se administra normalmente con un nivel de dosificación de desde aproximadamente 0.01 mg/kg hasta aproximadamente 150.0 mg/kg de peso corporal por día o cualquier intervalo dentro del mismo. Preferiblemente, el intervalo es de desde aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 100.0 mg/kg de peso corporal por día, más preferiblemente desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 50 mg/kg, más preferiblemente desde aproximadamente 1.0 hasta aproximadamente 25.0 mg/kg de peso corporal por día. Los compuestos pueden administrarse siguiendo un régimen de 1, 2, 3 ó 4 veces por día. Las cantidades de ligando de SV2A que se administran diariamente pueden variar desde aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 7000 mg, preferiblemente estarán entre 250 y 5000 mg y más preferiblemente estarán entre 500 y 3000 mg. Ejemplos de cantidades diarias del ligando de SV2A son 2.5, 5.0, 10.0, 15.0, 25.0, 50.0, 100, 150, 200, 250, 500, 750, 1000, 1500 y 3000 miligramos para el ajuste sintomático de la dosis al paciente que va a tratarse. Normalmente, una cantidad eficaz del fármaco se administra con un nivel de dosificación de desde aproximadamente 0.01 mg/kg hasta aproximadamente 150.0 mg/kg de peso corporal por día o cualquier intervalo dentro del mismo. Preferiblemente, el intervalo es de desde aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 100.0 mg/kg de peso corporal por día, más preferiblemente desde aproximadamente 0.5 mg/kg hasta aproximadamente 50 mg/kg, más preferiblemente desde aproximadamente 1.0 hasta aproximadamente 25.0 mg/kg de peso corporal por día. Los compuestos pueden administrarse siguiendo un régimen de 1, 2, 3 ó 4 veces por día. Todas las cantidades mencionadas en este párrafo y en los siguientes se refieren a la forma libre (es decir, la forma no salina). Los valores anteriores representan equivalentes de la forma libre, es decir, cantidades como si se administrase la forma libre. Si se administran sales, deben calcularse las cantidades en función de la razón de pesos moleculares entre la sal y la forma libre.

Las dosis diarias mencionadas anteriormente se calculan para un peso corporal promedio de aproximadamente 70 kg y deben recalcularse en el caso de aplicaciones pediátricas o cuando se utilicen en pacientes con un peso corporal que sea sustancialmente diferente.

Las dosificaciones pueden presentarse en forma de una, dos, tres, cuatro o más subdosis administradas en intervalos adecuados a lo largo del día. La dosificación usada corresponde preferiblemente a la cantidad diaria del compuesto de PAM de mGluR2 o del ligando de SV2A, mencionado anteriormente, o una subdosis de la misma, tal como 1/2, 1/3, 1/4 de la misma. Una forma de dosificación puede contener el compuesto de PAM de mGluR2, o el ligando de SV2A o ambos juntos, en una cantidad equivalente a los intervalos o las cantidades mencionados en los párrafos anteriores, por ejemplo una forma de dosificación puede contener 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 150 mg, o 200 mg del compuesto de PAM de mGluR2 10 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg o 250 mg, del ligando de SV2A, tanto en formulaciones separadas como en una formulación combinada. En una realización, el compuesto de PAM de mGluR2 se administra una vez al día (q.d.), en particular como una dosis al día, y el ligando de SV2A se administra una o dos veces al día (q.d. o b.i.d.), en particular como una o dos dosis al día. En el caso de que ambos compuestos deban administrarse una vez al día, esto puede lograrse administrando dos dosis por separado, una con el compuesto de PAM de mGluR2 una con el ligando de SV2A, o administrando una dosis combinada que contiene el compuesto de PAM de mGluR2 y el ligando de SV2A.

Las combinaciones de la invención pueden administrarse una, dos, tres, cuatro o, si se desea, múltiples veces al día. En una realización, la combinación se administra una vez al día. En otra realización, la combinación se administra dos veces al día o tres veces al día. La administración de las dosis puede realizarse mediante formas de dosificación separadas, es decir, formas de dosificación que contienen solo el compuesto de PAM de mGluR2 o solo el ligando de SV2A; o mediante formas de dosificación combinadas que contienen los principios activos compuesto de PAM de mGluR2 y ligando de SV2A. Además, puede usarse una mezcla del uso de una forma de dosificación combinada y de formas de dosificación separadas. Más adelante en la presente se describen las formas de dosificación que pueden administrarse, siendo las preferidas las formas de dosificación orales, en particular los comprimidos o las cápsulas.

Los principios activos pueden formularse en composiciones farmacéuticas o bien por separado o bien como una composición farmacéutica combinada. En el último caso, se proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de PAM de mGluR2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y del ligando de SV2A, siendo el anterior tal como se especifica en la presente, y un portador farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, esta invención se refiere a un proceso para preparar una composición farmacéutica tal como se especifica en la presente, que comprende mezclar de forma íntima un portador farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de PAM de mGluR2 o un solvato o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos un ligando de SV2A.

Las combinaciones proporcionadas en la presente también pueden formularse como una preparación combinada para su uso simultáneo, secuencial o por separado en la prevención y el tratamiento de la epilepsia y trastornos relacionados; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; trastornos bipolares y trastornos relacionados; en neuroprotección; o en la prevención de la epileptogénesis. En tal caso, el compuesto de PAM de mGluR2 se formula en una composición farmacéutica que contiene otros excipientes farmacéuticamente aceptables, y el ligando de SV2A se formula por separado en una composición farmacéutica que contiene otros excipientes farmacéuticamente aceptables. De manera conveniente, estas composiciones farmacéuticas separadas pueden ser parte de un kit para

su uso simultáneo, secuencial o por separado.

Los componentes individuales de la combinación de la presente invención pueden administrarse simultáneamente o por separado en diferentes momentos durante el transcurso de una terapia o de forma concurrente en formas de combinación únicas o divididas.

Por tanto, los compuestos de PAM de mGluR2 y el ligando de SV2A, individualmente o combinados, pueden formularse en diversas composiciones farmacéuticas adecuadas para fines de administración. En estas, una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, o de los dos compuestos, se combina con un portador farmacéuticamente aceptable, que puede tomar una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse como medicamentos que deben administrarse por vía oral, parenteral (incluyendo la vía subcutánea (s.c.), intramuscular (i.m.) e intravenosa (i.v.)), rectal, transdérmica, bucal o nasal. Las composiciones farmacéuticas también pueden prepararse para administrarse directamente al sistema nervioso por vías que incluyen la vía intracerebral, intraventricular, intracerebroventricular, intratecal, intracisternal, intraespinal y/o periespinal mediante la administración con agujas y/o catéteres por vía intracraneal o intravertebral con o sin dispositivos de bombeo. Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen polvos, materiales granulados, agregados, comprimidos, pastillas recubiertas o prensadas, grajeas, sobres, cápsulas duras o de gelatina, jarabes y suspensiones. Las composiciones adecuadas para la administración parenteral incluyen soluciones o emulsiones acuosas o no acuosas, mientras que para la administración rectal las composiciones adecuadas incluyen supositorios con un vehículo hidrófilo o hidrófobo. Para la administración tópica, pueden usarse sistemas de liberación transdérmica adecuados y, para el suministro nasal, pueden usarse sistemas de liberación de aerosol adecuados.

Por ejemplo, en la preparación de las composiciones para administración oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes en el caso de composiciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y disoluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes en el caso de composiciones sólidas. Para las composiciones parenterales, el portador normalmente comprenderá agua estéril, al menos en gran parte, aunque se le pueden añadir otros componentes, tales como solubilizantes, emulsionantes o auxiliares adicionales. Pueden prepararse disoluciones inyectables en las que el portador comprende solución salina, disolución de glucosa o una mezcla de ambas. También pueden prepararse suspensiones inyectables, en cuyo caso pueden emplearse portadores líquidos, agentes de suspensión adecuados. También se incluyen preparaciones en forma sólida previstas para convertirse, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida tales como polvos para reconstitución. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración en la piel y/o un agente humectante, opcionalmente combinados con aditivos compatibles con la piel adecuados en proporciones minoritarias. El compuesto de PAM de mGluR2 o el ligando de SV2A, o combinaciones de los mismos, también pueden administrarse por inhalación o insuflación oral mediante formulaciones adecuadas para este tipo de administración tales como una disolución, una suspensión o un polvo seco. Algunas composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración en forma de aerosoles o pulverizadores son, por ejemplo, suspensiones del compuesto de PAM de mGluR2 o del ligando de SV2A, o de ambos, en un portador líquido farmacéuticamente aceptable tal como etanol o agua o una mezcla de los mismos. Si se requiere, la formulación también puede contener adicionalmente otros auxiliares farmacéuticos tales como tensioactivos, emulsionantes y estabilizantes, así como un propelente. Una preparación de este tipo contiene el compuesto activo con una concentración de desde aproximadamente el 0.1 hasta el 50%, en particular desde aproximadamente el 0.3 hasta el 3% en peso.

Las composiciones farmacéuticas pueden contener el principio activo del compuesto de PAM de mGluR2 o el ligando de SV2A, o ambos combinados en una concentración de aproximadamente el 0.1% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 30%, o de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 20%, o de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 20%, estando todos los porcentajes en peso, en las que el total de todos los componentes en dichas composiciones farmacéuticas no excede el 100%. En las composiciones que contienen los dos compuestos, el compuesto de PAM de mGluR2 y el ligando de SV2A, el compuesto de PAM de mGluR2 está presente en una concentración de aproximadamente el 0.1% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 1% a aproximadamente el 30%, o de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 20%, o de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 20%; y el ligando de SV2A está presente con una concentración de aproximadamente el 3% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 5% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 50%, o de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 40%, o de aproximadamente el 10% a aproximadamente el 30%, en las que el total de todos los componentes en dichas composiciones farmacéuticas no excede el 100%.

Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en una forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Los ejemplos incluyen comprimidos (incluyendo los comprimidos recubiertos o ranurados), cápsulas, pastillas, supositorios, sobres de polvos, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, y múltiplos segregados de los mismos. Son de interés las formas de dosificación sólidas para administración oral tales como comprimidos o cápsulas.

Las formas de dosificación sólidas en una forma de dosis unitaria pueden envasarse en cualquier envase conocido, prefiriéndose los envases de tipo blíster, en particular para comprimidos y cápsulas. Cuando el compuesto de PAM de mGluR2 y el ligando de SV2A se formulan por separado, podrían envasarse en blísteres por separado, pero un blíster también podría comprender formas de dosis unitarias del compuesto de PAM de mGluR2 y del ligando de SV2A, por ejemplo, una fila con unidades del compuesto de PAM de mGluR2 y otra con el ligando de SV2A. También pueden existir otras posibilidades.

Las combinaciones de esta invención pueden usarse para tratar o prevenir la epilepsia y trastornos relacionados; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; trastornos bipolares y trastornos relacionados; o pueden usarse como un neuroprotector o para prevenir la epileptogénesis.

Tal como se usa en la presente, se pretende que el término "**tratamiento**" se refiera a todos los procesos en los cuales pueda producirse una ralentización, interrupción, detención o finalización del avance de una enfermedad o un alivio de sus síntomas, pero no indica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas.

Tal como se usan en la presente y a menos que se indique lo contrario, los términos "**epilepsia y trastornos relacionados**" o "**epilepsia o trastornos relacionados**", significarán cualquier trastorno en el cual un sujeto (preferiblemente un ser humano adulto, niño o bebé) experimenta una o más convulsiones y/o temblores. Los ejemplos adecuados incluyen epilepsia (que incluye epilepsias relacionadas con la localización, epilepsias generalizadas, epilepsias con convulsiones tanto generalizadas como locales), convulsiones de inicio parcial con o sin generalización, convulsiones mioclónicas, convulsiones tónico-clónicas generalizadas primarias, en particular en pacientes con epilepsia generalizada idiopática, convulsiones asociadas con el síndrome de Lennox-Gastaut, convulsiones como una complicación de una enfermedad o afección (tales como las convulsiones asociadas con una encefalopatía, fenilcetonuria, enfermedad de Gaucher juvenil, epilepsia mioclónica progresiva de Lundborg, accidente cerebrovascular, traumatismo craneal, estrés, cambios hormonales, uso o abstinencia de drogas, uso o abstinencia del alcohol, privación del sueño, fiebre, infección) estados epilépticos (convulsivos o no convulsivos), temblor esencial, síndrome del miembro inquieto. Preferiblemente, el trastorno se selecciona de epilepsia (independientemente del tipo, causa subyacente u origen), temblor esencial o síndrome del miembro inquieto. Más preferiblemente, el trastorno es epilepsia (independientemente del tipo, causa subyacente u origen) o temblor esencial. Un ejemplo particular de epilepsia es la epilepsia refractaria, también denominada epilepsia resistente a la terapia o al tratamiento. Este término se usa a menudo cuando en los pacientes han fracasado tres o más fármacos antiepilépticos (FAE). La epilepsia refractaria también incluye la epilepsia parcial refractaria y la epilepsia generalizada refractaria (incluyendo la idiopática o sintomática).

Tal como se usa en la presente, el término "**dolor neuropático**", incluye el dolor resultante de estados o trastornos crónicos o debilitantes. Los estados o trastornos crónicos o debilitantes que pueden conducir a dolor neuropático incluyen neuropatía periférica diabética dolorosa, neuralgia posherpética, neuralgia trigeminal, dolor posterior a accidente cerebrovascular, dolor asociado con esclerosis múltiple, dolor asociado con neuropatías tal como el que se produce en mononeuritis y neuropatía postraumática o idiopática, dolor neuropático asociado con VIH, dolor neuropático asociado con cáncer, dolor neuropático asociado con túnel carpiano, dolor asociado con una lesión de la médula espinal, síndrome de dolor regional complejo, dolor neuropático asociado con fibromialgia, dolor cervical y lumbar, distrofia simpática refleja, síndrome del miembro fantasma y síndromes de dolor asociados con otros estados debilitantes y crónicos.

Tal como se usa en la presente, el término "**migraña**" significará una afección clínica crónica, episódica y debilitante que se diagnostica por la presencia de cefaleas pulsantes unilaterales de moderadas a graves que perduran entre 4 y 72 h, que incluye migraña con aura y migraña sin aura. Tal como se usa en la presente, "migraña sin aura", significará al menos cinco ataques que cumplen los siguientes criterios: (a) el ataque de cefalea perdura durante 4-72 horas, presentando la cefalea al menos dos de las siguientes características: localización unilateral, calidad pulsante, intensidad de moderada a grave con una influencia directa sobre actividades de la vida diaria y que se agrava al subir escaleras o realizar rutinas similares; y (b) durante la cefalea, se produce al menos uno de los siguientes fenómenos: náusea y/o vómitos, fotofobia y fonofobia. Tal como se usa en la presente, "migraña con aura", significará al menos dos ataques acompañados por al menos 3 de las 4 características siguientes: (a) uno o más síntomas de aura completamente reversibles; (b) al menos un síntoma de aura que se desarrolla de forma gradual a lo largo de más de cuatro minutos o dos o más síntomas que se producen de forma sucesiva; (c) ningún síntoma de aura que perdure más de 60 minutos; (d) se produce una cefalea antes, de manera simultánea con o después del aura, con un intervalo libre entre el aura y la cefalea de menos de aproximadamente 60 minutos.

Tal como se usa en la presente, el término "**trastornos bipolares y trastornos relacionados**" incluirá trastorno bipolar de tipo I (p. ej., episodio maníaco único, episodio hipomaníaco más reciente, episodio maníaco más reciente, episodio mixto más reciente, episodio depresivo más reciente y episodio no especificado más reciente), trastorno bipolar de tipo II, trastorno ciclotímico y trastorno bipolar no especificado de otro modo (tal como estos términos se definen según sus criterios de diagnóstico, en el Diagnostic and Statistical manual of Mental Disorders, 4ª edición, revisión de texto, Asociación Psiquiátrica Americana, 2000 (DSM-IV-TR) o en la 5ª edición, revisión de texto, Asociación Psiquiátrica Americana, 2013 (DSM-5™). Preferiblemente, el trastorno bipolar se caracteriza por fases depresivas y maníacas (o hipomaníacas), en el que las fases son cíclicas. Preferiblemente, el trastorno bipolar es un trastorno bipolar de tipo I o un trastorno bipolar de tipo II. Tal como se usa en la presente "manía" debe incluir manía

o una fase de estado de ánimo maníaco, independientemente de la causa subyacente. Tal como se usa en la presente, se pretende que el término "manía bipolar" signifique la manía asociada con una característica de o sintomática de un trastorno bipolar. Por tanto, los métodos para tratar la manía bipolar de la presente invención se refieren a métodos que tratan la manía y/o la fase maníaca de los trastornos bipolares. Tal como se usa en la presente, se pretende que el término "depresión bipolar", signifique la depresión asociada con una característica de o sintomática de un trastorno bipolar. Por tanto, métodos para tratar la depresión bipolar de la presente invención se refieren a métodos que tratan la depresión y/o la fase depresiva de los trastornos bipolares. Tal como se usan en la presente, a menos que se indique lo contrario, los términos "ciclo" o "ciclo bipolar" se referirán a la alteración del estado de ánimo entre las fases depresiva y maníaca características de los trastornos bipolares. Por tanto, la presente invención incluye métodos para la estabilización de dicho ciclo, que incluyen la reducción de la frecuencia del ciclo y/o la reducción de la magnitud de las fases maníaca y/o depresiva.

Por tanto, en una realización, la composición farmacéutica de la presente invención puede utilizarse para estabilizar el estado de ánimo, en particular estabilizar el estado de ánimo durante una depresión maníaca.

Tal como se usa en la presente, el término "**epileptogénesis**", se refiere al proceso gradual mediante el cual se desarrolla la epilepsia. Este proceso puede suceder tras una lesión cerebral o después de una serie de estados, que incluyen enfermedades neurodegenerativas, lesión cerebral traumática, accidente cerebrovascular, tumor cerebral, infecciones del sistema nervioso central, estado epiléptico, o puede suceder después de que se produzcan mutaciones génicas.

Tal como se usa en la presente, el término "**ansiedad**", se refiere en particular al trastorno de ansiedad generalizado.

Tal como se usa en la presente, el término "**aproximadamente**", tiene su significado convencional. En realizaciones particulares, cuando se refiere a un valor numérico, puede interpretarse que significa el valor numérico ± 10%, o ± 5%, o ± 2%, o ± 1%, o ± 0.5 % o ± 0.1%. En otras realizaciones, se hace referencia al valor exacto, es decir, no se menciona el término "aproximadamente".

"**Y/o**" significa que cada uno de o ambos o todos los componentes o características de una lista, son posibles variantes, especialmente dos o más de los mismos de un modo alternativo o acumulativo.

Tal como se usan en la presente, los términos "**un/a**", "**el/la**" y términos similares usados en el contexto de la presente invención (especialmente en el contexto de las reivindicaciones), deben interpretarse de manera que abarquen tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo en la presente o que el contexto indique claramente lo contrario.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos se exponen para ayudar en la comprensión de la invención, y no pretenden y no debe interpretarse que limitan de cualquier manera la invención expuesta en las reivindicaciones que siguen después.

ESTUDIOS ANTICONVULSIVOS CON COMPUESTOS DE mGluR2 (Y AGONISTA ORTOSTÉRICO DE REFERENCIA Y COMPUESTOS DE REFERENCIA)

Generalidades

Preparación de compuestos y disoluciones de prueba

Los compuestos de prueba se administraron usando una razón óptima de volumen de líquido con respecto a líquido corporal. Se administraron los compuestos de prueba a ratones a un volumen de 0.01 mL/g de peso corporal (White, H.S., *et al.*, General principles: Experimental selection, quantification, and evaluation of antiepileptic drugs, in Antiepileptic Drugs, cuarta edición, R. H. Levy, R.H. Mattson, and B. S. Meldrum, Editors. 1995, Raven Press, Ltd.: Nueva York. págs. 99-110). Para la administración subcutánea (s.c.), se administraron los compuestos de prueba en un pliegue de piel laxo a lo largo del dorso del animal excepto el compuesto de referencia **6-b**, que se administró por vía oral (p.o). Para cada uno de los ensayos realizados con los compuestos de prueba (excepto para el compuesto de referencia **6-b**), se administraron concentraciones de compuesto finales como disolución acuosa en Hp-β-CD al 20%. Para el compuesto de referencia **6-b**, primero se preparó una disolución madre de Hp-β-CD al 40% y se usó para formular el compuesto de referencia **6-b** a las concentraciones deseadas para los ensayos mediante la vía oral; se administraron concentraciones de compuesto finales como disolución acuosa en Hp-β-CD al 20%. Para los grupos de vehículo, se usó una disolución de Hp-β-CD al 20%.

Para el compuesto de referencia LY-404039, se administraron concentraciones de compuesto finales como una solución salina s.c.

Para el compuesto de referencia CAS 1092453-15-0, se administraron concentraciones de compuesto finales en vehículo de Hp-β-CD al 10% (+NaCl) tras la disolución.

Las concentraciones finales de levetiracetam se administraron en una disolución acuosa de metilcelulosa (MC) al

0.5%, que se administró mediante una inyección intraperitoneal (i.p.).

Reactivos críticos

a) Dioluciones de vehículo

Metilcelulosa (MC) al 0.5%

Disolución madre de hidroxipropil-β-ciclodextrina (Hp-β-CD) al 40%

b) Dioluciones diversas

Se añadió tetracaína (disolución al 0.5% p/v) gota a gota a partir de una botella de plástico con cuentagotas a los ojos de todos los animales que recibirían posteriormente una estimulación eléctrica mediante electrodos corneales.

Animales y cría de animales

Se obtuvieron ratones albinos CF n.º 1 macho adultos (26-35 g) de Charles River, Portage, Michigan. Los animales siguieron una dieta adecuada (Prolab RMH 3000) y se les permitió acceso libre a comida y agua, excepto en el tiempo breve durante el que se retiraron de su jaula para las pruebas. Se permitió que los animales recién recibidos en el laboratorio se tomaran el tiempo suficiente para corregir posibles restricciones de comida y agua que hubieran tenido lugar durante el tránsito antes de emplearse en los ensayos. Todos los ratones se acomodaron en jaulas de plástico en salas especialmente construidas con humedad controlada, intercambio de aire e iluminación controlada (12 horas encendida - 12 horas apagada). Los animales se acomodaron, alimentaron y manipularon según las recomendaciones de la Publicación del Consejo Nacional "Guide for the Care and Use of Laboratory animals".

Alteración motora mínima (MMI, por sus siglas en inglés):

Se evaluó la MMI aguda mediante una combinación de observaciones directas del animal en busca de síntomas manifiestos de la función muscular o neurológica del animal. En ratones, se usó el procedimiento Rotarod para describir la deficiencia muscular o neurológica mínima. Cuando se coloca un ratón en un rodillo que rota a una velocidad de 6 rpm, el animal puede mantener su equilibrio durante periodos de tiempo prolongados. Se consideró que el animal estaba intoxicado si se caía de su rodillo giratorio tres veces durante un periodo de 1 min.

Determinación de la mediana de la dosis eficaz y tóxica (DE_{50} y DT_{50})

En la determinación de una DE_{50} o DT_{50} para cada compuesto de prueba, la primera dosis administrada es habitualmente la misma dosis que la que se usó en una determinación de TPE exitosa. Cuando la dosis inicial empleada era eficaz o tóxica en más del 50% de los animales, la siguiente dosis sería la mitad de la dosis inicial; si la dosis inicial empleada era eficaz o tóxica en menos del 50% de los animales, la siguiente dosis sería el doble de la dosis inicial. Se seleccionaron terceras y cuartas dosis para producir una línea de respuesta a la dosis uniformemente espaciada. Debería haber un mínimo de 4 puntos o bien incluyendo o bien que se encuentran entre el 0 y el 100%.

Determinación de TPE:

Se administraron compuestos de prueba a grupos generalmente cada uno de cuatro animales y cada grupo se sometió a prueba en uno de cinco puntos de tiempo: 0.25, 0.5, 1, 2, o 4 h tras el tratamiento (White *et al*. 1995). Se determinó el TPE usando el ensayo de 6 Hz (32 mA). Se consideró que el tiempo (0.25, 0.5, 1, 2 o 4 h tras el tratamiento) en el que se observó una protección máxima era el tiempo del efecto máximo (TPE, por sus siglas en inglés).

Se sometieron a prueba los compuestos en el ensayo de 6 Hz (32 y/o 44 mA) en el TPE determinado para este estudio, o determinado previamente, para varias dosis, que comprendían dosis que provocaban desde una protección escasa o nula hasta una protección total.

Se calcularon la DE_{50} y el intervalo de confianza del 95% (IC) usando el análisis Probit en un programa informático proporcionado en el laboratorio (Finney “Probit Analysis” 34d DE 1971, Londres: Cambridge University Press).

Recogida de suero para el análisis pK/pD

En diversas pruebas, se sacrificaron los animales tras los ensayos, y se recogió sangre del torso y/o tejido cerebral (cerebros enteros) para la cuantificación de los niveles de fármaco. Inmediatamente después de los ensayos, los animales se decapitaron y se recogió sangre del torso en un tubo BD Vacutainer® que contenía K2EDTA y se enfrió sobre hielo hasta la centrifugación. Tras la centrifugación (13000–18000 rpm, 5-7 min), se retiró el plasma, se transfirió a un tubo para microcentrífuga etiquetado y se conservó a -80 °C. Para la recogida del tejido cerebral, se retiraron los cerebros inmediatamente tras la decapitación y se congelaron de forma instantánea. Se colocó la muestra congelada en un tubo para centrífuga etiquetado y se conservó a -80 °C.

Prueba de convulsión psicomotora de 6 Hz en ratones

Se usa la prueba de convulsión de 6 Hz como modelo de convulsiones límbicas farmacorresistentes. La convulsión de 6 Hz presenta resistencia a fenitoína, carbamazepina, lamotrigina, y topiramato (Barton *et al*. "Pharmacological characterization of the 6 Hz psychomotor seizure model of partial epilepsy" Epilepsy Research 2001, vol. 47, págs. 217-222).

Método para la prueba de convulsión psicomotora de 6 Hz

Se indujeron convulsiones focales en ratones mediante estimulación corneal (6 Hz, pulso rectangular de 0.2 ms, duración de 3 s; Barton *et al*. 2001). Se sometieron a prueba los ratones o bien a 32 mA o bien a 44 mA. Antes de la estimulación, se aplicaron gotas con tetracaína al 0.5% a cada ojo. Las convulsiones provocadas por la estimulación corneal en este ensayo se caracterizan por una fase clónica mínima seguida de comportamientos automatísticos estereotipados, que incluyen aturdimiento, espasmos de las extremidades delanteras, contracción de las vibrisas y cola de Straub. Se consideró que los animales que no presentaban estos comportamientos estaban protegidos.

EJEMPLO 1 – ESTUDIOS CON LOS COMPUESTOS 1 Y 2

1.1. Estudio de combinación con el Comp. n.º 1, Comp. n.º 2 y levetiracetam

En primer lugar, se sometió a prueba cada compuesto individualmente a una dosis que presentó actividad mínima en la prueba de 6 Hz, 44 mA en cada TPE del compuesto. Cuando se administraron los compuestos de PAM de mGluR2 y levetiracetam en combinación (mismas dosis y puntos de tiempo que en los ensayos indviduales) se observó protección casi completa en la prueba de 6 Hz, 44 mA (tabla 2). Además de registrar los datos de eficacia y toxicidad para estos compuestos solos o en combinación, se recogieron tanto muestras de plasma como de cerebro de cada uno de los groupos para análisis farmacocinéticos/farmacocinética. No se observó interacción farmacocinética basándose en los niveles de compuesto en las muestras de plasma y cerebro (datos no mostrados). En resumen, los compuestos **1** y **2** presentaron interacción farmacocinética positiva con levetiracetam en el modelo de 6 Hz que no parece deberse a la interacción farmacocinética, y sin alteración motora creciente (tablas 2, 2a, 2b). También se sometió a prueba el efecto de 1 dosis de compuesto **2** en la respuesta a la dosis de LEV. Tal como se muestra en la tabla 3, hubo un desplazamiento de ~200 veces en la DE_{50} de LEV en comparación con cuando se sometió a prueba LEV solo. Parecía que LEV aumentaba la potencia del Comp. n.º **2** ligeramente (tabla 3).

1.2. Análisis isobolográfico de las interacciones entre el Comp. n.º 1 y levetiracetam en el modelo de convulsiones de 6 Hz

Se llevaron a cabo estudios isobolográficos para la administración combinada del Comp. n.º **1** con LEV en el ensayo de 6 Hz (44 mA). Se llevaron a cabo estudios según los métodos previamente descritos (Madsen *et al*. 2011). se determinaron los valores de DE_{50} iniciales tanto para el Comp. n.º **1** como para LEV y se usaron para calcular los valores de DE_{50} (± error estándar de la media, EEM) para tres combinaciones de razón de dosis fija (LEV: Comp. n.º **1**): 1:3, 1:1, y 3:1. Las dosis usadas eran proporcionales a los valores de DE_{50} calculados. Por ejemplo, la razón de dosis usada para el paradigma 1:1 se basó en 0.5 x DE_{50} para LEV y 0.5 x DE_{50} para el Comp. n.º **1**. De manera similar, el paradigma 1:3 usó 0.25 x DE_{50} para LEV y 0.75 x DE_{50} para el Comp. n.º **1**. La razón de dosis 3:1 usó 0.75 x DE_{50} de LEV y 0.25 x DE_{50} para el Comp. n.º **1**. Las dosis de tratamiento experimentales (véase la tabla 4) se basaron en los valores teóricos y se ajustaron según los efectos observados. Los valores de DE_{50} determinados experimentalmente (± EEM) para cada combinación de razón de dosis fija se compararon con los valores teóricos (prueba de la t) para fines estadísticos. Se determinó que la razón de dosis era supra-aditiva (sinérgica) si el valor de DE_{50} determinado experimentalmente era significantivamente más bajo que la DE_{50} teórica. Posteriormente, se determinaron las dosis combinadas experimentales para los mismos paradigmas en la prueba de convulsión de 6 Hz (tabla 4 a continuación). El estudio isobolográfico con el compuesto 1 y levetiracetam en el modelo de 6 Hz demostró una interacción farmacodinámica sinérgica significativa en todas las razones de dosis evaluadas y se corresponde estrechamente con los niveles en plasma del compuesto 1. Además, no se observó alteración motora en ninguna de las razones de dosis evaluadas sugiriendo que la interacción de farmacodinámica sinérgica no produce una toxicidad motora aumentada.

1.3. Modelo de estimulación corneal de ratón y estudios con el compuesto 1

Se estimularon electricamente ratones con un estímulo de 3 segundos, 3 mA, 60 Hz, dos veces al día usando electrodos corneales hasta un criterio de 5 convulsiones consecutivas de estadio 5 tal como se definió por Racine (Racine "Modification of seizure activity by electrical stimulation" II. motor seizure" Electroenceph Clin Neurophysiol 1972, 32, págs. 281-294). Después de que los ratones alcanzasen un estado estimulado estable, se administró el compuesto o vehículo de prueba y, en el TPE determinado previamente, se aplicó a cada animal el estímulo eléctrico indicado anteriormente. Tras la estimulación, se observaron los animals para determinar la presencia o ausencia de la actividad de convulsión alcanzada en la escala de Racine (0 – 5) representando 5 el estado más alto irguiéndose y cayendo. Se sometieron a prueba una dosis de LEV y dos dosis del Comp. n.º **1** individualmente y en combinación contra convulsiones corneales estimuladas. La combinación del compuesto 1 con levetiracetam en este modelo sugirió una interacción de farmacodinámica positiva (tabla 5 a continuación).

Se presenta un resumen de los datos para los compuestos sometidos a prueba solos en la tabla 1 y se enumeran resultados adicionales de estudios realizados según el ejemplo 1 en las tablas 2-5 a continuación.

Tabla 1: Resumen de los datos anticonvulsivos agudos en el modelo de 6 Hz a 32 mA y 44 mA para los compuestos de PAM de mGluR2 1, 2, compuesto de referencia 11, 2-a, 25-a, compuesto de referencia 6-b y compuesto de referencia LY-404039 tras la administración s.c. (excepto el compuesto de referencia 6-b, que se sometió a prueba por vía p.o.). TPE significa tiempo del efecto máximo, IC significa intervalo de confianza, s.c. significa subcutáneo, p.o. significa por vía oral, n.t. significa no sometido a prueba. Se determinó el TPE en la prueba de 6 Hz, 32 mA. Generalmente se observan los efectos a dosis que no producen alteración en la prueba de Rotarod. Para los compuestos **11** y **2-a** se proporcionan los valores individuales de experimentos de repetición. Para el compuesto 25-a, se usaron ambos puntos de tiempo de 0.25 y de 1 h para los estudios de 6 Hz (44 mA).

Comp. n.º	**TPE (h)**	**DE_{50} (IC del 95%) mg/kg, s.c.**		**Puntuación de convulsión (dosis)**
		32 mA	**44 mA**	**Estimulación corneal**
Compuesto de referencia 11	0.5	4.77 (3.54 – 6.76) 9.41 (1.53-15.1)	31.5 (15.1 – 47.3)	2.8 (100 mg/kg)
2	0.25	3.83 (1.62 – 6.71)	5.89 (3.89 – 8.45)	3.4 (40 mg/kg)
1	0.5	2.8 (1.3 – 4.3)	10.2 (3.1 – 12.4)	3.7 (20 mg/kg)
25-a	1	7.7 (2.3-18.4)	1 hr TPE: 25.9 (15.5-33.7) 0.25 hr TPE: 29.1 (21.6-39.6)	n.t.
2-a	0.5	44.7 (23.4-80.5) 20.8 (10.0-31.7) 12.2 (8.4-17.4)	50% de protección a 100 mg/kg 21 (17.9-27.4)	4.4 (100 mg/kg)
Compuesto de referencia 6-b	0.5	7.2 (4.2-11.8)	16.1 (13.0-20.1)	n.t.
Compuesto de referencia LY-404039	0.5	10.2 (3.62-12.4)	n.t.	3.1 (100 mg/kg)

Tabla 1a: Resumen de la determinación del TPE a 6 Hz, 32 mA para el Comp. n.º 1

Dosis (mg/kg, s.c.)	**Tiempo (h)**	**6 Hz, 32 mA**	**Alteración motora**
10	4	0/4	0/0
	2	0/4	0/0
	1	3/4	0/0
	0.5	4/4	0/0
	0.25	4/4	0/0
5	0.5	8/12	0/0

	0.25	8/12	0/0
2.5	0.5	5/8	0/0
	0.25	1/8	0/0

(número de ratones protegidos en 6 Hz o tóxicos en Rotarod/número de sometidos a prueba)

Tabla 1b: Estudios de dosis-respuesta para el Comp. n.º 1. Se determinó previamente que el TPE para el Comp. n.º **1** era de 0.5 h (resultados mostrados anteriormente en la tabla 1a). Se administraron varias dosis del Comp. n.º **1** en este TPE y se sometieron a prueba en el ensayo de 6 Hz, usando intensidades de estímulos tanto de 32 como de 44 mA.

Prueba	**Dosis (mg/kg, s.c.)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
6Hz 32 mA	20	8/8	1/8
	10	7/8	0/8
	5	8/12	0/12
	2.5	7/16	0/16
	0.5	1/8	0/8
DE_{50} (IC del 95%): 2.8 mg/kg (de 1.3 a 4.3)			
6Hz 44 mA	20	8/8	1/8
	15	7/8	0/8
	10	4/8	0/8
	2.5	0/8	0/8
DE_{50} (IC del 95%): 10.2 mg/kg (de 3.1 a 12.4)			

Tabla 2: Resumen de la interacción del Comp. n.º 1 y el Comp. n.º 2 con levetiracetam (LEV) en el modelo de convulsiones de 6 Hz, 44 mA de ratón. Los resultados se enumeran como número de ratones que presentan protección completa/número total de ratones sometidos a prueba en cada grupo de dosificación (en los niveles de dosificación de combinación o compuesto de prueba especificados).

	Dosis	**Tiempo (h)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con toxicidad motora/número de sometidos a prueba**
LEV	10 mg/kg i.p.	1	1/6	0/6
Comp. n.º 2 + LEV	**3 mg/kg s.c.**	**0.25**	**5/6**	**0/6**
Comp. n.º 2	3 mg/kg s.c.	0.25	1/6	0/6
LEV	10 mg/kg i.p.	1	1/8	0/8
Comp. n.º 1 + LEV	**2.5 mg/kg s.c.**	**0.5**	**6/8**	**0/8**
Comp. n.º 1	2.5 mg/kg s.c.	0.5	0/8	0/8

Tabla 2a: Niveles en plasma y cerebro del Comp. n.º 1. en el estudio de combinación con levetiracetam (LEV). BQL significa por debajo del límite cuantificable.

Comp. n.º 1	**LEV**	**Plasma (ng/ml)**	**Comp. n.º 1**	**Plasma (ng/ml)**	**Protección a 6 Hz**
6 Hz 44 mA	10 mg/kg	9350	2.5 mg/kg	BQL	Sí
		8580		244	No
		10900		314	Sí
		10300		382	Sí
		9780		416	Sí
		9780		377	Sí
		13700		2260*	No
		10100		607	Sí
Nivel en plasma medios		**10311**		**657.1 (390)**	**6/8**
Niveles en plasma medios (sin combinación)	**1/8**	8254	**0/8**	438	

El nivel en plasma medio mostrado entre paréntesis ( ) se calcula eliminando un resultado atípico* estadístico

Tabla 2b: Niveles en plasma y cerebro del Comp. n.º 2 en el estudio de combinación con levetiracetam (LEV). AQL significa por encima del límite cuantificable.

Comp. n.º 2	**LEV**	**Plasma (ng/ml)**	**Cerebro (ng/ml)**	**Comp. n.º 2**	**Plasma (ng/ml)**	**Cerebro (ng/ml)**	**Protección a 6 Hz**
6 Hz 44 mA	10 mg/kg	6450	6290	3 mg/kg	1830	1540	Sí
		8200	7990		386	1020	Sí
		3540	4760		4700	1310	Sí
		3850	NA		467	NA	No
		7150	6380		AQL (>500)	1120	Sí
		3890	3960		2080	1140	Sí
Niveles en plasma / cerebro promedio		**5513**	**5876**		**1893**	**1226**	**5/6**
Niveles en plasma / cerebro medios (sin combinación)	**1/6**	8750	5773	**1/6**	1295	1113	

NA – muestra no disponible para el análisis

ES 2 748 633 T3

Tabla 3: Determinaciones de DE_{50} en el modelo de convulsiones de 6 Hz (44 mA) para el Comp. n.º 2 y levetiracetam (LEV) solos y en combinación. LEV a una dosis de 10 mg/kg aumentó la potencia del Comp. n.º 2 (desplazamiento de ~5 veces en la DE_{50}). Comp. n.º **2** a una dosis de 3 mg/kg aumentó tanto la eficacia (hasta el 100% de protección) como la potencia de LEV (desplazamiento de ~200 veces en la DE_{50}).

La figura 1 muestra la respuesta a la dosis para las determinaciones de DE_{50} a 6 Hz, 44 mA para el Comp. n.º **2** y LEV solos y en combinación.

Tratamiento	**DE_{50} (IC del 95%) mg/kg**	**Efecto máximo (% de protección)**
Comp. n.º **2** solo	6.97 (5.44 – 8.30)	100%
Comp. n.º **2** + LEV (10 mg/kg)	1.35 (0.8 – 1.9)	100%
LEV solo	~ 200	75%
LEV + Comp. n.º **2** (3 mg/kg)	1.0 (0.23 – 2.24)	100%

Tabla 4: Resultados del Comp. n.º 1 y levetiracetam en el estudio isobolográfico.

Grupo	**LEV (mg/kg i.p.)**	**f**	**Comp. n.º 1 (mg/kg s.c.)**	**f**	**dosis combinada (mg/kg)**	**Rotarod número de con toxicidad motora/número de sometidos a prueba**	**6 Hz (44 mA) número de protegidos/número de sometidos a prueba**
paradigma de 1:1	181	0.5	5.1	0.5	93.1	0/8	8/8
	90.5		2.6		46.6	0/8	6/8
	45.3		1.3		23.3	0/8	3/8
	22.6		0.6		11.6	0/8	3/8
ED_{50} (95% CI; mg/kg): 22.2 (8.4-35.7)							
paradigma de 1:3	45.3	.25	3.8	.75	14.2	0/8	8/8
	22.6		1.9		7.1	0/8	4/8
	11.3		1.0		3.6	0/8	2/8
ED_{50} (95% CI; mg/kg): 5.9 (3.5-8.7)							
paradigma de 3:1	271.5	.75	2.6	.25	204.3	0/8	8/8
	135.8		1.3		102.2	0/8	3/8
	67.9		0.6		51.1	0/8	3/8
	33.9		0.3		25.5	0/8	0/8

ED_{50} (95% CI; mg/kg): 86.3 (56.8-131.4)

El análisis isobolográfico (figura 2) demuestra que la combinación del Comp. n.º **1** y levetiracetam da como resultado un efecto sinérgico significativamente positivo.

Tabla 5: Resultados del estudio de combinación del Comp. n.º 1 y levetiracetam en el modelo de estimulación corneal en ratones.

Compuesto(s)	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**% de protegidos**	**Puntuación de convulsión media**
Vehículo (20% de HPBCD a 30', s.c.; 0.5% de MC a 60', i.p.)	0/10	0%	4.7
LEV 3 mg/kg	5/13	38%	3.3
Comp. n.º **1** 30 mg/kg	3/12	25%	4.0
LEV 3 mg/kg y Comp. n.º 1 30 mg/kg	10/10	100%	0.6
Comp. n.º **1** 20 mg/kg	5/16	31%	3.7
LEV 3 mg/kg y Comp. n.º 1 20 mg/kg	7/10	70%	1.9
	Puntuación de convulsión de Racine	de 0 a 5 0 = sin actividad de convulsión 5 = actividad de convulsión máxima	

EJEMPLO 2 – ESTUDIOS CON LOS COMPUESTOS 25-a Y 2-a

2.1. Estudio de combinación con el Comp. n.º 25-a y levetiracetam

Se realizaron estudios de respuesta a la dosis independientes en la prueba de 6 Hz, 44 mA para ambos compuestos para determinar los valores de DE_{50} en el TPE de 1 h i.p. para levetiracetam y de 1 h s.c. para el Comp. n.º **25-a**. El valor de DE_{50} para el Comp. n.º **25-a** era de 25.9 mg/kg y para levetiracetam se estimó que era de aproximadamente 345 mg/kg. Se repitió la respuesta a la dosis para levetiracetam con coadministración de 10 mg/kg del Comp. n.º **25-a** (una dosis del Comp. n.º **25-a** que sola no protegió en el modelo de 6 Hz, 44 mA). La coadministración de 10 mg/kg del Comp. n.º **25-a** produjo una DE_{50} en la respuesta a la dosis de levetiracetam de 4.9 mg/kg (~70 veces inferior en comparación con levetiracetam solo) y proporcionó de manera importante una protección completa en el modelo de convulsiones de 6 Hz, 44 mA. Estos resultados sugieren que existe una interacción farmacodinámica positiva en el modelo de convulsiones de 6 Hz entre el Comp. n.º **25-a** y levetiracetam.

Tabla 6: Determinación del tiempo para el efecto máximo para el Comp. n.º 25-a en el ensayo de 6 Hz (32 mA). Se usaron dos dosis en este estudio, de 10 y 20 mg/kg, a lo largo de varios puntos de tiempo (0.25 - 4 h). El compuesto mostró el mayor grado de protección en el ensayo de 6 Hz entre 0.25 y 1 h, que era más evidente a 20 mg/kg. Niveles en plasma del compuesto generalmente correspondian a la protección frente a la convulsión del comportamiento. Se usó un TPE de 0.25 h para los estudios de 6 Hz (32 mA) mientras que se usaron los puntos de tiempo tanto de 0.25 como de 1 h para los estudios de 6 Hz (44 mA).

s.c. significa subcutáneo

Dosis (mg/kg, s.c.)	**Tiempo (h)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**	**Niveles en plasma medios del Comp. n.º 25-a (ng/mL)**
10	0.25	2/4	0/4	10,983 (2,477)
	0.5	1/4	0/4	3,330
	1	1/4	1/4	700
	2	0/4	0/4	256
	4	0/4	0/4	40
20	0.25	4/4	0/4	4,095
	0.5	3/4	1/4	2,800
	1	4/4	1/4	1,765
	2	1/4	0/4	618
	4	1/4	1/4	28

El nivel en plasma medio mostrado entre paréntesis ( ) se calcula eliminando un resultado atípico estadístico.

Tabla 7: Estudios de respuesta a la dosis para el Comp. n.º 25-a en el ensayo de 6 Hz (32 mA[a] y 44 mA[b])

IC significa intervalo de confianza

Prueba	**Dosis (mg/kg, s.c.)**	**número de protegidos/ número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**	**Niveles en plasma medios del Comp. n.º 25-a (ng/mL)**
6Hz 32 mA	20	8/8	0/8	5,570
	15	3/8	0/8	1,201
	10	4/8	0/8	6,113
	5	4/8	0/8	2,558
	1	1/8	0/8	466
ED_{50} (95% CI): 7.7 mg/kg (de 2.3 a 18.4)				
6Hz 44 mA	40	7/8	0/8	6,263
	30	3/8	0/8	7,220
	20	2/8	0/8	3,368
	10	0/8	0/8	4,345 (1,526)
	5	0/8	1/8	1,428
ED_{50} (95% CI): 29.1 mg/kg (de 21.6 a 39.6)				

[a]Se determinó que el tiempo para el efecto máximo en el ensayo de 6 Hz, 32 mA para el Comp. n.º 25-a era de 0.25 h (véase la tabla 1).

[b]El tiempo para el efecto máximo en el ensayo de 6 Hz, 44 mA para el Comp. n.º 25-a era similar para 0.25 h y 1 h; los resultados para 1 h confirmaron la DE_{50} (IC del 95%) de 25.9 (15.5 – 33.7) (véanse las tablas 1 y 6).

El nivel en plasma medio mostrado entre paréntesis ( ) se calcula eliminando un resultado atípico estadístico.

Tabla 8: Estudios de combinación para el Comp. n.º 25-a con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA).

Fármaco	**Dosis (mg/kg, s.c.)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED_{50} (95% CI): 345.4 mg/kg (de 211.0 a 485.3)			
LEV + Comp. n.º **25-a** 10 mg/kg	200	8/8	1/8
	100	7/8	2/8
	50	5/8	1/8
	10	4/8	0/8
	1	4/8	1/8
ED_{50} (95% CI): 4.9 (0.0 – 14.2)			

Comp. n.º **25-a** (s.c.) 10 mg/kg sometido a prueba en combinación con LEV (i.p.) - Comp. n.º **25-a** 10 mg/kg, no era activo cuando se administró solo.

2.2. Estudios de combinación con el Comp. n.º 2-a y levetiracetam

Se realizaron estudios de respuesta a la dosis en las pruebas de 6 Hz, 32 mA y 44 mA (tabla 9 a continuación) y en la prueba de combinación con levetiracetam (efecto del Comp. n.º 2-a sobre la respuesta a la dosis de LEV en la tabla 10a y el efecto de LEV sobre la respuesta a la dosis del Comp. n.º 2-a en la tabla 10b a continuación) de la misma manera que se describió para los estudios con el Comp. n.º **25-a** y levetiracetam anteriormente.

Tabla 9: Estudios de respuesta a la dosis para el Comp. n.º 2-a en el ensayo de 6 Hz (32 mAa y 44 mA; 0.5 h de TPE) Se determinó un tiempo para el efecto máximo de 0.5 h en la prueba de 6 Hz, 32 mA (s.c.) y se usó para los estudios de 6 Hz (32 mA y 44 mA).

Prueba	Dosis (mg/kg, s.c.)	número de protegidos/número de sometidos a prueba	número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba
6Hz 32 mA	40	8/8	2/8
	20	6/8	3/8
	10	4/8	0/8
	5	0/8	0/8
	2.5	0/8	1/8

Prueba	Dosis (mg/kg, s.c.)	número de protegidos/número de sometidos a prueba	número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba
ED_{50} (95% CI): 12.2 mg/kg (de 8.4 a 17.4)			
6Hz 44 mA	40	8/8	4/8
	20	3/8 3/8	0/8 0/8
	15	2/8	1/8
	10	**0/8** **0/8**	**1/8** **0/8**
ED_{50} (95% CI): 21.0 mg/kg (de 17.9 a 27.4) **TD_{50}: > 40 mg/kg**[a]			

[a]40 mg/kg – 6 de 16 en total (32 mA y 44 mA combinados) con alteración.

Dosis seleccionada para estudios de combinación con LEV en 6 Hz (44 mA): Comp. n.º **2-a** 10 mg/kg.

Tabla 10a: Estudios de combinación para el Comp. n.º 2-a con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). Combinación de 10 mg/kg del Comp. n.º **2-a** con dosis variables de levetiracetam.

Fármaco	**Dosis (mg/kg)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED_{50} (95% CI): 345.4 mg/kg (de 211.0 a 485.3)			
LEV + Comp. No. **2-a** 10 mg/kg[a]	200	6/8	1/8
	100	6/8	0/8
	50	6/8	0/8
	25	8/8	0/8
	12.5	5/8	0/8
	6.25	4/8	0/8
	3.125	3/8	1/8

	1.5625	0/8	0/8
LEV ED_{50} (95% CI): 9.6 mg/kg (1.7 – 21.9)			

[a]Comp. n.º **2-a** (s.c.) 10 mg/kg sometidos a prueba en combinación con LEV (i.p.); Comp. n.º **2-a** 10 mg/kg, no era activo cuando se administró solo.

Se sometieron a prueba grupos control de LEV (baja dosis) adicionales a 25 y 6.25 mg/kg (1/8 y 0/6 protegidos, respectivamente).

Ratones tratados con vehículo (0.5% de metilcelulosa i.p. (1 h) / 20% de HPBCD s.c. (0.5 h)) no mostraron protección (0/8 protegidos).

Tabla 10b: Estudios de combinación para el Comp. n.º 2-a con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA). combinación de 350 mg/kg de levetiracetam con dosis variables del Comp. n.º **2-a**.

Fármaco	**Dosis (mg/kg)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
LEV (solo)[a]	350	3/8	0/8
LEV 350 mg/kg + Comp. n.º 2-a[b]	20	8/8	2/8
	10	7/8	1/8
	5	7/8	1/8
	2.5	5/8	0/8
	1.25	4/8	0/8
DE_{50} (IC del 95%) del Comp. n.º 2-a previo: 21.0 mg/kg (de 17.9 a 27.4)			
DE_{50} (IC del 95%) de la combinación de LEV y el Comp. n.º 2-a: 1.5 mg/kg (0.1 – 2.7)			
Desplazamiento de 14 veces en potencia			

[a]DE_{50} de LEV (presentado de manera separada) previamente determinada en 6 Hz (44 mA): 345 mg/kg.

[b]Comp. n.º **2-a** (s.c.) 10 mg/kg sometidos a prueba en combinación con LEV (i.p.); Comp. n.º **2-a** 10 mg/kg, no era activo cuando se administró solo.

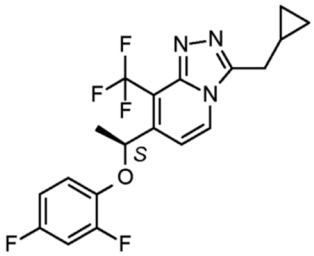
Se sometieron a prueba grupos control de LEV (baja dosis) adicionales a 25 y 6.25 mg/kg (1/8 y 0/6 protegidos, respectivamente).

Ratones tratados con vehículo (0.5% de metilcelulosa i.p. (1 h) / 20% de HPBCD s.c. (0.5 h) no mostraron protección (0/8 protegidos).

A una dosis de 10 mg/kg s.c., el Comp. n.º **2-a** aumenta la potencia de LEV, llevando a un desplazamiento de aproximadamente 35 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva (tabla 10a). A una dosis de 350 mg/kg i.p., LEV aumenta la potencia del Comp. n.º 2-a, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 14 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación de farmacodinámica positiva (tabla 10b).

EJEMPLO 3 – ESTUDIOS CON EL COMPUESTO DE REFERENCIA 6-b

3.1. Estudio de combinación con el Comp. de referencia n.º 6-b y levetiracetam



(Comp. de referencia n.° 6-b)

Se realizaron estudios de respuesta a la dosis independientes en la prueba de 6 Hz, 44 mA para ambos compuestos para determinar los valores de DE_{50} en los TPE de 1 h i.p. para levetiracetam y de 0.5 h p.o. para el Comp. n.º **6-b**. El valor de DE_{50} para el Comp. n.º **6-b** era de 16.1 mg/kg y para levetiracetam se estimó que el valor era de aproximadamente 345 mg/kg. Se repitió la respuesta a la dosis para levetiracetam con coadministración de 10 mg/kg del Comp. n.º **6-b** (una dosis del Comp. n.º **6-b** que sola no protegió en el modelo de 6 Hz, 44 mA). La coadministración de 10 mg/kg del Comp. n.º **6-b** produjo una DE_{50} en la respuesta a la dosis de levetiracetam de 2.4 mg/kg (~100 veces inferior en comparación con levetiracetam solo) y proporcionó de manera importante una protección completa en el modelo de convulsiones de 6 Hz, 44 mA. Estos resultados sugieren que existe una interacción farmacodinámica positiva en el modelo de convulsiones de 6 Hz entre el Comp. n.º **6-b** y levetiracetam.

Los resultados de los estudios realizados con el compuesto 6-b se enumeran en las tablas 11-13 a continuación.

Tabla 11: Determinación del tiempo para el efecto máximo para el Comp. de referencia n.º 6-b (p.o.) en el ensayo de 6 Hz (32 mA).

Dosis (mg/kg, p.o.)	**Tiempo (h)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
10	0.25	1/4	0/4
	0.5	3/4	0/4
	1	0/4	0/4
	2	1/4	0/4
	4	0/4	0/4
20	0.25	4/4	0/4
	0.5	3/4	0/4
	1	4/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	1/4	0/4

Se determinó que el TPE era de 0.5 h.

Tabla 12: Estudio de respuesta a la dosis para el Comp. de referencia n.º 6-b en el ensayo de 6 Hz (32 mA y 44 mA; 0.5 h de TPE).

Prueba	**Dosis (mg/kg, p.o.)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
6Hz 32mA	20	7/8	0/8
	10	6/8	0/8

	5	2/8	0/8
	2.5	1/8	0/8
ED_{50} (95% CI): 7.2 mg/kg (de 4.2 a 11.8)			
6Hz 44mA	40	8/8	0/8
	20	6/8	0/8
	15	4/8	0/8
	10	0/8	0/8
ED_{50} (95% CI): 16.1 mg/kg (de 13.0 a 20.1)			

Tabla 13: Estudios de combinación para el Comp. de referencia n.º 6-b con LEV en el ensayo de 6 Hz (44 mA).

Fármaco	**Dosis (mg/kg)**	**número de protegidos/número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
LEV	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
ED_{50} (95% CI): 345.4 mg/kg (de 211.0 a 485.3)			
LEV + Comp. n.º **6-b** 10 mg/kg	200	8/8	0/8
	100	8/8	0/8
	50	5/8	0/8
	10	5/8	0/8
	1	5/8	0/8
ED_{50} (95% CI): 2.4 (0.0 – 6.4)			

Comp. n.º **6-b** (p.o.) 10 mg/kg sometido a prueba en combinación con LEV (i.p.)

Comp. n.º **6-b** 10 mg/kg, no era activo cuando se administró solo

EJEMPLO 4 – ESTUDIOS CON EL COMPUESTO DE REFERENCIA LY404039

3.1. Estudio de combinación con el compuesto de referencia LY404039 y levetiracetam

Se sometió a prueba LY-404039 solo y en combinación con levetiracetam según los procedimientos ya descritos anteriormente en la presente. Los resultados de los estudios realizados con LY-404039 se enumeran en las tablas 14-15.

Tabla 14: Estudios de respuesta a la dosis para el compuesto de referencia LY404039 en el ensayo de 6 Hz (32 mA y 44 mA) Se determinó un tiempo para el efecto máximo de 0.5 h en la prueba de 6 Hz, 32 mA (s.c.) y se usó para los estudios de 6 Hz (32 mA y 44 mA).

Prueba	Dosis (mg/kg, s.c.)	número de protegidos/número de sometidos a prueba	número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba
6Hz 32mA	40	8/8	1/8
	20	6/8	1/8
	10	5/8	0/8
	5	1/16	1/16
ED_{50} (95% CI): 10.9 mg/kg (de 7.8 a 15.9)			
6Hz 44mA	40	7/8	2/8
	20	7/8	1/8
	10	3/8	1/8
	5	**0/16**	**0/16**
ED_{50} (95% CI): 14.1 mg/kg (de 10.0 a 20.6) **TD_{50}: > 40 mg/kg**[a]			

[a]40 mg/kg – 3 de 16 en total (32 mA y 44 mA combinados) con alteración.

Nota: no se observó actividad tras la administración de vehículo en 32 o 44 mA.

Dosis seleccionada para estudios de combinación con LEV en 6 Hz (44 mA): LY404039 5 mg/kg.

Tabla 15: Estudios de combinación para el compuesto de referencia LY404039 con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA).

Fármaco	Dosis (mg/kg)	número de protegidos/ número de sometidos a prueba	número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba
LEV[a]	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED_{50} (95% CI): 345.4 mg/kg (de 211.0 a 485.3)			
LEV + LY404039 5 mg/kg[b]	200	8/8	0/8
	50	6/8	1/8
	20	6/8	2/8
	5	2/8	1/8

LEV ED_{50} (95% CI): 12.8 mg/kg (2.5 – 25.2)

[a]LEV solo mostrado anteriormente, dosis de confirmación realizadas en combinación con el Comp. n.º **2-a** (véase la tabla previa anteriormente).

[b]LY404039 (s.c.) 5 mg/kg sometido a prueba en combinación con LEV (i.p.); LY404039 5 mg/kg no era activo cuando se administró solo.

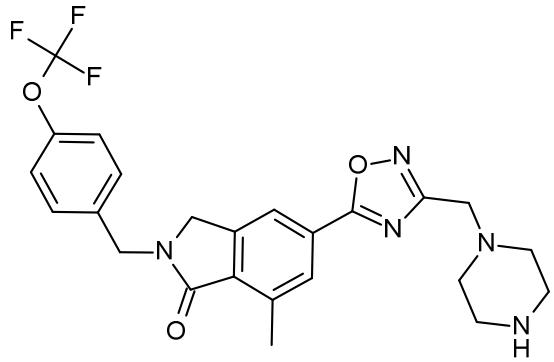
Se sometieron a prueba grupos control de LEV (baja dosis) adicionales a 25 y 6.25 mg/kg (1/8 y 0/6 protegidos, respectivamente).

Ratones tratados con vehículo (10% de agua estéril – NaCl; s.c., 0.5 h de TPE y el 0.5% de MC, i.p., 1 h de TPE) no mostraron protección o alteración de Rotarod.

A una dosis de 5 mg/kg de LY404039 aumenta la potencia de LEV, conduciendo a un desplazamiento de aproximadamente 27 veces en la DE_{50}. Esto sugiere una relación farmacodinámica positiva.

EJEMPLO 5 – ESTUDIOS DE REFERENCIA CON EL COMPUESTO DE REFERENCIA CAS 1092453-15-0

5.1. Estudio de combinación con 2,3-dihidro-7-metil-5-[3-(1-piperazinilmetil)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[[4-(trifluorometoxi)fenil]metil]-1H-isoindol-1-ona [CAS 1092453-15-0] (descrita en el documento WO 2008150233, WO 2011084098) y levetiracetam



Se sometió a prueba CAS 1092453-15-0 solo y en combinación con levetiracetam según los procedimientos ya descritos anteriormente en la presente. Los resultados del ejemplo 5 se enumeran en las tablas 16-17.

Tabla 16: Estudios de respuesta a la dosis para el compuesto de referencia CAS 1092453-15-0 en el ensayo de 6 Hz (32 mAa)

Dosis (mg/kg, s.c.)	**Tiempo (h)**	**número de protegidos /número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
20	0.25	1/4	0/4
	0.5	0/4	0/4
	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
40	0.25	1/4	0/4
	0.5	1/4	0/4

	1	1/4	0/4
	2	0/4	0/4
	4	0/4	0/4
80	0.25	0/4	0/4
	0.5	0/4	0/4
	1	1/4	1/4

Se observó baja actividad a las dosis y puntos de tiempo sometidos a prueba. La mayor actividad a 0.25-1 h en las dosis sometidas a prueba. Se realizaron estudios de combinación usando 20 mg/kg, s.c, 1 h de TPE en el ensayo de 6 Hz (44 mA).

Tabla 17: Estudios de combinación para el compuesto de referencia CAS 1092453-15-0 con levetiracetam (LEV) en el ensayo de 6 Hz (44 mA).

Fármaco	**Dosis de LEV (mg/kg)**	**número de protegidos/ número de sometidos a prueba**	**número de con alteración motora de Rotarod/número de sometidos a prueba**
LEV[a]	200	2/8	0/8
	400	4/9	0/9
	800	10/12	0/12
LEV ED_{50} (95% CI): 345.4 mg/kg (de 211.0 a 485.3)			
[CAS 1092453-15-0] (20 mg/kg, solo)		0/8	0/8
LEV + [CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg[b]	400	4/8	0/8
	200	5/8	0/8
	50	3/8	0/8
	20	2/8	0/8
	5	1/8	1/8
DE_{50} (IC del 95%) de LEV: 238.9 mg/kg (41.6 – por encima de la mayor dosis sometida a prueba)			

[a]Se sometieron a prueba grupos control de LEV (baja dosis) adicionales a 25 y 6.25 mg/kg (1/8 y 0/6 protegidos, respectivamente).

[b][CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg (s.c.; 1 h de TPE) sometido a prueba en combinación con LEV (i.p.; 1 h de TPE); [CAS 1092453-15-0] 20 mg/kg presentaba baja actividad cuando se administró solo (6 Hz, 32 mA), y no se sometió a prueba en 6 Hz (44 mA). Este compuesto presentaba una CE_{50} *in vitro* = 562 nM (E_{max} = 197%) cuando se sometió a prueba en el ensayo de GTPγS descrito anteriormente en la presente y no se observó ocupación en experiments *ex vivo* en ratas.

Nota: Animales tratados con vehículo (10% de HPβCD-NaCl; s.c., 1 h y 0.5% de MC, i.p., 1 h) no mostraron protección o alteración motora, N=8.

El conjunto de datos actual indica que las moléculas de PAM de mGlu2 o agonista tienen actividad anticonvulsiva en el modelo animal de 6 Hz. Las PAM de mGlu2 sometidas a prueba con potencias de CE_{50} ≤de 150 nM (tal como se determinó en el ensayo de [^{35}S]GTPγS), parámetros de PK y penetración en el cerebro apropiados, mostraron actividad en el paradigma de 6 Hz, tanto de 32 como de 44 mA. Además, todas las moléculas sometidas a prueba mostraron efectos sinérgicos con LEV. En cambio, la molécula de referencia CAS 1092453-15-0, que solo era débilmente activa (CE_{50} de 562 nM) *in vitro*, no mostró actividad en ninguna de las pruebas de 6 Hz, y tampoco mostró sinergia con LEV.

De manera importante, los datos indican que, en condiciones de características de PK comparables y penetración en el cerebro apropiada, las PAM de mGlu2 más potentes, basándose en los valores de CE_{50} *in vitro*, también parecían las más potentes *in vivo*, sugiriendo que la potencia *in vitro* e *in vivo* puede estar vinculadas. Además, se observaron de manera sistemática efectos sinérgicos con LEV con dosis de PAM de mGlu2 similares a la DE_{50} obtenida en el modelo de 32 mA o al menos 2 veces inferior que la DE_{50} determinada en el paradigma de 44 mA (es decir, una dosis inactiva en la prueba de 44 mA cuando se sometieron a prueba las moléculas solas).

También para el compuesto de referencia LY404039, el agonista de mGlu2/3, se observó actividad en ambas pruebas de 6 Hz y se observó sinergia a una dosis 3 veces inferior a la DE_{50} determinada en el modelo de 44 mA, que era inactiva cuando se sometía a prueba sola.

Basándose en los datos preclínicos disponibles en el modelo de 6 Hz, 44 mA, parece que combinar un ligando de SV2A potente y una PAM de mGlu2 potente, conduce a una dismunución en la mediana de la dosis eficaz o DE_{50} del ligando de SV2A, tal como LEV, entre 35 y 100 veces.

Por tanto, sin desear restringirse a la teoría, se sugiere que los compuestos del modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 (PAM de mGluR2), en particular compuestos de PAM de mGluR2 que tienen una potencia de CE_{50} de ≤150 nM (tal como se determinó en el ensayo de [^{35}S]GTPγS), en el que CE_{50} es la concentración que produce la mitad del efecto máximo en una curva de concentración-respuesta obtenida en presencia de CE_{20}de glutamato , y parámetros de PK y penetración en el cerebro apropiados, dan como resultado una combinación sinérgica con un ligando de SV2A, en particular levetiracetam, a dosis no eficaces de uno o ambos de compuesto (a) y compuesto (b) de la combinación de la invención.

Por tanto, en una realización adicional, el compuesto del modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 (PAM de mGluR2) de la combinación de la invención tal como se definió en la presente se selecciona de un compuesto de PAM de mGluR2 que tiene una potencia de CE_{50} de ≤150 nM (tal como se determinó en el ensayo de [^{35}S]GTPγS), en el que CE_{50} es la concentración que produce la mitad del efecto máximo en una curva de concentración-respuesta obtenida en presencia de CE_{20}de glutamato.

EJEMPLOS TEÓRICOS

A) RELACIONES DE COMPORTAMIENTO DOMINANTE-SUMISO (DSR, POR SUS SIGLAS EN INGLÉS) EN ENSAYO *IN VIVO* EN RATAS

El ensayo de DSR se divide en dos modelos: Modelo de reducción del comportamiento dominante (RDBM, por sus siglas en inglés) de la manía y modelo de reducción del comportamiento sumiso (RSBM, por sus siglas en inglés) de la depresión. El RDBM, en el que se tratan los animales dominantes con el compuesto de prueba, predice la capacidad del compuesto de prueba para tratar la manía. El RSBM, en el que se tratan los animales sumisos con el compuesto de prueba, predice la capacidad del compuesto de prueba para tratar la depresión.

En este ensayo, se usan ratas Sprague Dawley macho (de 140 a 160 g) de Charles River Laboratories Wilmington, MA. Se reciben envíos de ratas en intervalos de dos semanas. Cada envío se someterá a una cuarentena de cinco días, un periodo de aclimatación de una semana y un proceso de selección de una semana, seguido de cinco semanas de tratamiento con vehículo o fármaco para los pares seleccionados.

Se acomodarán cuatro ratas en cada jaula. El acceso a la comida se restringirá a una hora por día después de los ensayos desde el lunes hasta el jueves. Después de los ensayos del viernes, las ratas tendrán acceso libre a la comida hasta someterlas nuevamente a ayuno el domingo. En ningún momento se privará a las ratas del acceso a agua. Los periodos de privación de alimentos utilizados tendrán un efecto menor en el aumento de peso, ya que el peso medio de la rata será de aproximadamente 300 g al final del estudio. Al concluir el experimento, las ratas se sacrificarán por decapitación, se recogerán la sangre del tronco y los cerebros para realizar experimentos *in vitro* y mediciones de la concentración de fármaco.

El aparato básico de los ensayos constaba de dos cámaras conectadas con un túnel sólo lo suficientemente largo como para permitir que pasara una rata a través cada vez. En el suelo, en el punto central del túnel, se colocará un envase con leche edulcorada. Este aparato básico se replicará, de manera que se pueda realizar un seguimiento por video de un total de cuatro pares de ratas de manera simultánea. La cámara puede distinguir ratas marcadas mediante diferentes colores. Por tanto, las cabezas de las ratas se colorearán con el fin de un seguimiento por video, de rojo en una jaula y amarillo en la otra jaula. Solo un animal puede tener acceso confortable al alimentador cada vez, pero ambos animales pueden beber leche durante la sesión diaria de cinco minutos. Durante las sesiones diarias de cinco minutos, se

registrará el tiempo que pasa cada rata en la zona del alimentador con el software de seguimiento por video y se guardará en un archivo de texto.

La prueba empezará con una distribución aleatoria de las ratas por pares. Cada miembro de un par se colocará en una cámara opuesta del aparato de pruebas. Se registrará el tiempo que pasa cada animal en la zona del alimentador. Durante la primera semana (cinco días) de pruebas, los animales se habitúan al nuevo entorno. Se asignará la dominancia al animal con la puntuación más elevada durante la segunda semana de pruebas si se cumplen tres criterios. En primer lugar, debe existir una diferencia significativa (prueba de la t bilateral, $P < 0.05$) entre las puntuaciones de bebida diarias promedio de ambos animales. En segundo lugar, la puntuación del animal dominante debe ser al menos un 25% mayor que la puntuación del animal sumiso. Finalmente, no debe haber ninguna "inversión" durante la semana de selección del par, en la que la posible rata sumisa consiga una puntuación mejor que la de su compañero dominante en ocasiones aisladas. Idealmente, también habrá inversiones mínimas durante la semana de aclimatación. Solo pares de animales que cumplan estos criterios continuarán en el estudio.

Las diferencias significativas entre el tiempo que las ratas dominantes y sumisas pasan en el alimentador se determinarán mediante ANOVA usando el software GraphPad Prism (software GraphPad, Inc. San Diego, CA) seguido por una prueba de la t bilateral ($P < 0.05$). Se compararán los grupos de tratamiento usando valores del nivel de dominancia normalizados en los animales apareados. El nivel de dominancia es un valor que mide la relación social entre sujetos apareados. Nivel de dominancia (DL, por sus siglas en inglés) = FTD – FTS, donde FTD (por sus siglas en inglés) es el tiempo que pasan las ratas dominantes en el alimentador y FTS (por sus siglas en inglés) es el tiempo que pasan las ratas sumisas en el alimentador. La normalización se llevará a cabo según la fórmula:

Nivel de dominancia (semana n en %) =

(Nivel de dominancia (semana n)) / (Nivel de dominancia (semana 2)

La significación estadística de la diferencia en el nivel de dominancia entre el grupo control (pares de ratas en los que ambos animales tanto dominantes como sumisos se tratarán con vehículo) y el grupo de tratamiento (las ratas sumisas se tratarán con fármaco y las ratas dominantes con vehículo) se determinará mediante ANOVA, seguido por una prueba de la t. El valor del tiempo de comienzo de actividad al 50% de la respuesta (AOT-50) y la respuesta mínima y máxima al fármaco se calcularán basándose en la reducción del valor del nivel de dominancia usando un análisis de regresión no lineal (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Para este cálculo se usán los valores normalizados de DL, donde los valores de DL para las semanas de tratamiento se normalizarán como un porcentaje del valor de la segunda semana (pretratamiento) para ese par según la fórmula anterior. En este contexto, el mínimo de la respuesta (DL) determina una actividad positiva del fármaco, que se corresponde con la eficacia, ya que los valores de DL se reducirán si la respuesta a un fármaco es positiva. En el caso de una respuesta negativa al fármaco (empeoramiento de los síntomas) los valores de DL aumentarán. Si el fármaco no presenta tal actividad el máximo de la respuesta no excederá el 100%. Cualquier valor de DL máximo significativamente superior al valor de control (aproximadamente el 100%) indica una actividad negativa del fármaco.

Se evaluarán levetiracetam y compuesto de PAM de mGluR2/agonista (p. ej. compuestos **2**, **2-a**, **25-a**, compuesto de referencia **6-b** o compuesto de referencia **LY-404039**) en el RDBM con ratas según el procedimiento descrito en mayor detalle a continuación.

Se tratarán grupos de ratas dominantes p.o. QD con levetiracetam 10 mg/kg y compuesto de PAM de mGluR2/agonista a varias concentraciones de desde aproximadamente 0.05 mg/kg ($n \geq 3$), a 0.5 mg/kg ($n \geq 3$), a 2.5 mg/kg ($n \geq 3$), a 5.0 mg/kg ($n \geq 3$) y a 50.0 mg/kg ($n \geq 3$). Un grupo control de ratas dominantes que se tratarán con 0.5% de metilcelulosa ($n \geq 3$) y un segundo grupo control de ratas dominantes se tratará i.p. QD con valproato de sodio a 30 mg/kg ($n \geq 6$ de 2 estudios de $n \geq 3$ cada uno).

Todos los tratamientos se administrarán aproximadamente 1 hora antes de los ensayos. Todos los tratamientos se iniciarán el sábado después de la segunda semana de ensayos (semana de selección). El levetiracetam y compuesto de PAM de mGluR2/agonista se administrarán por vía oral (p.o.).

Cuando se tratan los animales dominantes con 10 mg/kg de levetiracetam y compuesto de PAM de mGluR2/agonista, la diferencia entre las ratas dominantes y sumisas desaparecerá después de la primera o segunda semana de tratamiento dependiendo de la dosis. De manera similar, cuando se tratan los animales dominantes con valproato de sodio, la diferencia entre las ratas dominantes y sumisas también desaparecerá después de la primera semana de tratamiento. Puede observarse un incremento de la permisividad de las ratas dominantes tratadas con levetiracetam y el compuesto de PAM de mGluR2/agonista o valproato de sodio. Por tanto, las ratas dominantes tratadas permitirán que sus compañeras sumisas aumenten su tiempo en el alimentador.

Para comparar los diferentes efectos de fármacos y dosis, los datos se normalizarán respecto a los valores iniciales de la semana control. Se observará el efecto más fuerte de la combinación de levetiracetam y el compuesto PAM de mGluR2/agonista cuando exista una diferencia significativa en los valores del nivel de dominancia (DL) entre las ratas tratadas con vehículo y con la combinación a partir de la segunda semana y que continua a lo largo de la duración del tratamiento de 5 semanas. En comparación, los animales que se tratarán con valproato de sodio (30 mg/kg) mostrarán de manera sistemática un nivel de dominancia disminuido después de la segunda semana de tratamiento

incrementándose el efecto en las siguientes semanas.

Para estimar el tiempo de comienzo de actividad (AOT), los valores promedio diarios del tiempo de alimentador de los pares de animales dominantes y sumisos se representarán gráficamente y las diferencias significativas entre estos dos grupos se calcularán usando la prueba de la t bilateral.

Para comparar el tiempo de comienzo de actividad (AOT) entre diferentes tratamientos se estimará el tiempo de comienzo de actividad a partir del ajuste de regresión no lineal. El modelo de regresión no lineal se ajustará para los valores de DL diarios normalizados de cada fármaco, combinación y dosis.

Cabe esperar que los efectos de levetiracetam y el compuesto de PAM de mGluR2/agonista en el RDBM sean dependientes de dosis.

En este ensayo, se espera que la combinación de levetiracetam y los compuestos de PAM de mGlu2/agonista reduzcan el comportamiento dominante indicando que la combinación es activa como agente contra la manía.

B) COMPRIMIDOS ORALES

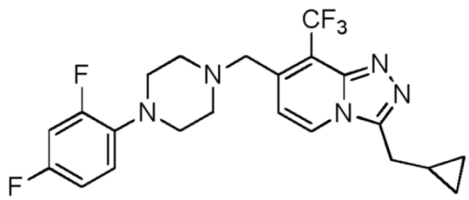
A modo de realización específica para una composición oral, se formulan 100 mg de un compuesto de PAM de mGluR2/agonista con una cantidad suficiente de lactosa finamente dividida para proporcionar una cantidad total de 580 a 590 mg para llenar una cápsula de gelatina dura de tamaño O.

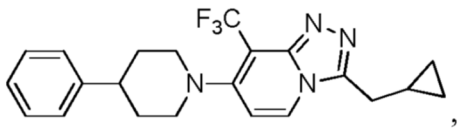
REIVINDICACIONES

1. Una combinación que comprende

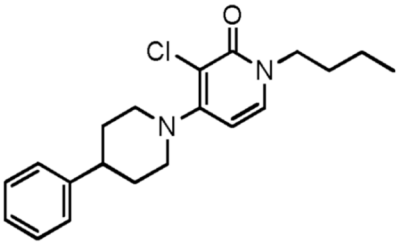
(a) un ligando de una proteína de la vesícula sináptica 2a ("SV2A") seleccionado del grupo que consiste en levetiracetam, brivaracetam y seletracetam; y

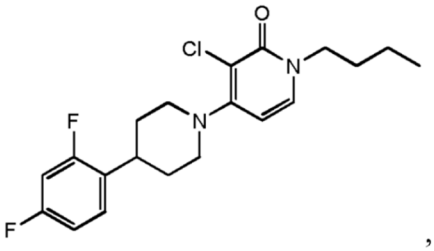
(b) un modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 seleccionado de un compuesto que tiene la fórmula



,


,



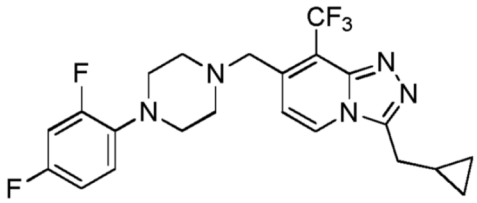
, o


,

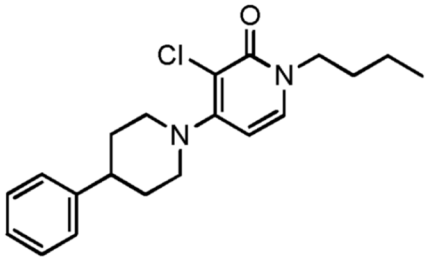
o una sal o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

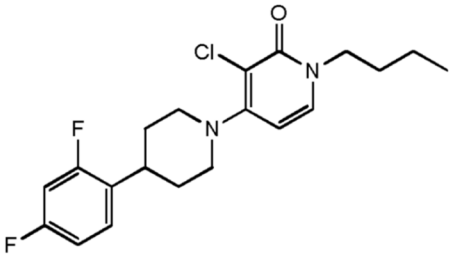
2. La combinación según la reivindicación 1, en la que el ligando de SV2A levetiracetam o brivaracetam

3. La combinación según la reivindicación 1 o 2, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



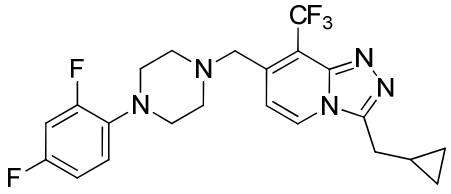
o una sal de clorhidrato del mismo;



; o


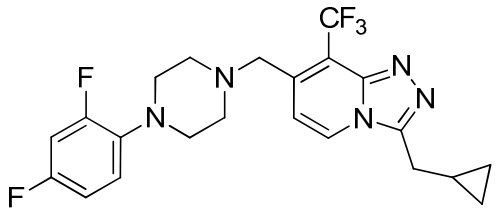
.

4. La combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



o una sal de clorhidrato del mismo.

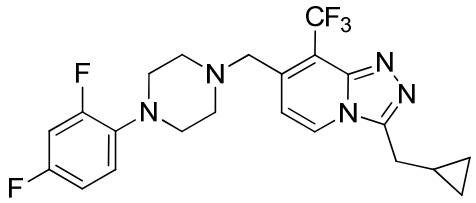
5. La combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



o una sal de clorhidrato del mismo;

y el ligando de SV2A es levetiracetam.

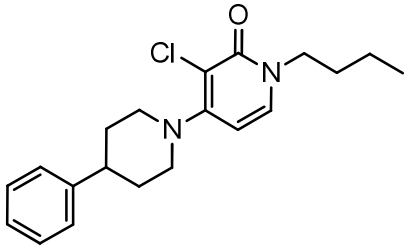
6. La combinación según la reivindicación 5, en la que levetiracetam y el compuesto de modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 de fórmula (Comp. n.° 1)



(Comp. n.° 1), o una sal de clorhidrato del mismo;

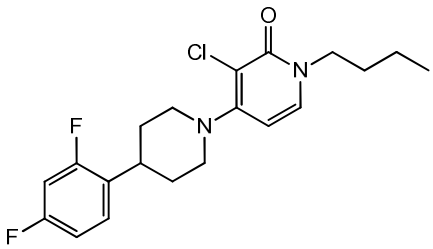
están en una razón de dosis fija de (a) levetiracetam: (b) (Comp. n.° 1) o una sal de clorhidrato del mismo de entre 1:3 y 3:1, calculada con respecto a los valores de DE_{50} de los componentes individuales.

7. La combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



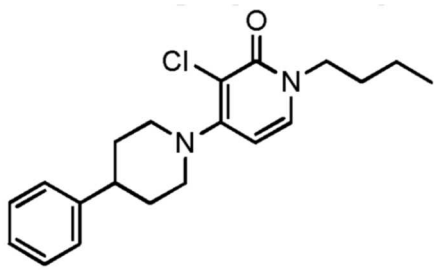
.

8. La combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



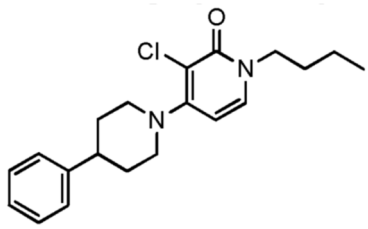
.

9. La combinación según la reivindicación 7, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



y el ligando de SV2A es levetiracetam.

10. La combinación según la reivindicación 8, en la que el modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2 es



y el ligando de SV2A es levetiracetam.

11. Una composición farmacéutica que comprende una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, y un portador farmacéuticamente aceptable.

12. La composición farmacéutica según la reivindicación 11, formulada como una composición farmacéutica combinada.

13. La composición farmacéutica según la reivindicación 11, formulada en composiciones farmacéuticas separadas.

14. Un procedimiento para preparar la composición farmacéutica según la reivindicación 11 o 12, en el que la combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 se mezcla de manera íntima con un portador farmacéuticamente aceptable.

15. Un producto que comprende la combinación del ligando de SV2A y un modulador alostérico positivo del receptor glutamatérgico metabotrópico de subtipo 2, tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, como una preparación combinada para su uso simultáneo, secuencial o por separado en el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; y trastornos bipolares y trastornos relacionados.

16. Una combinación tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una composición farmacéutica tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para su uso como medicamento.

17. Una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una composición farmacéutica tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, para su uso en la prevención de la epileptogénesis.

18. Una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente; y trastornos bipolares y trastornos relacionados.

19. La combinación para su uso según la reivindicación 18, en el tratamiento o la prevención de la epilepsia.

20. La combinación para su uso según la reivindicación 19, en la que la epilepsia es epilepsia resistente al tratamiento.

21. La combinación para su uso según la reivindicación 19, en la que la epilepsia es epilepsia con convulsiones focales con o sin generalización.

22. La combinación para su uso según la reivindicación 19, en la que la epilepsia es epilepsia con convulsiones generalizadas.

23. La combinación para su uso según la reivindicación 19, donde la epilepsia es epilepsia con convulsiones tónico-clónicas generalizadas primarias.

24. La combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso como un neuroprotector.

25. Un producto farmacéutico o un envase comercial que comprende una combinación según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 junto con instrucciones para su uso simultáneo, secuencial o por separado en el tratamiento o la prevención de la epilepsia; dolor neuropático; migraña o cefalea resistente, trastorno bipolar y trastornos relacionados.

FIG. 1

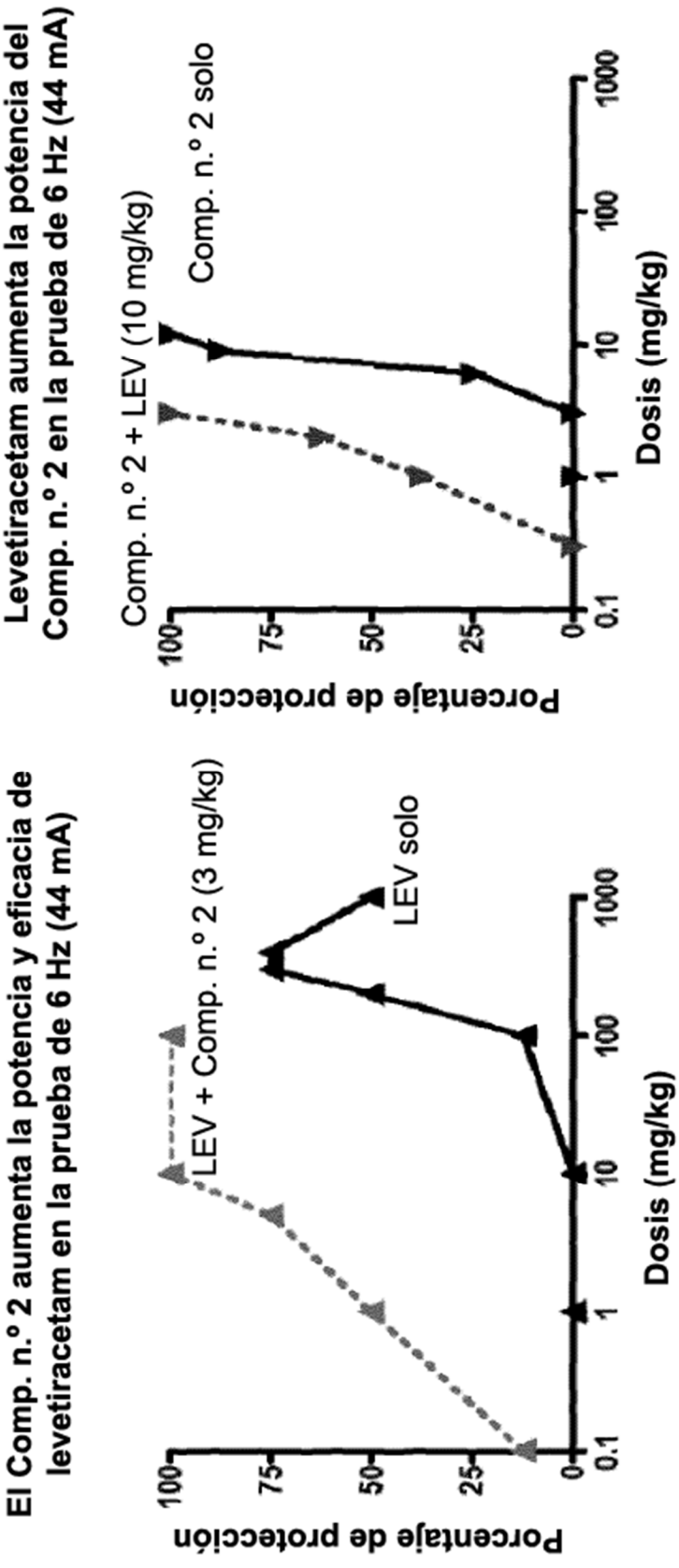

El Comp. n.º 2 aumenta la potencia y eficacia de levetiracetam en la prueba de 6 Hz (44 mA)
Porcentaje de protección
100
75
50
25
0
0.1
1
10
100
1000
Dosis (mg/kg)
LEV + Comp. n.º 2 (3 mg/kg)
LEV solo
Levetiracetam aumenta la potencia del Comp. n.º 2 en la prueba de 6 Hz (44 mA)
Comp. n.º 2 + LEV (10 mg/kg)
Comp. n.º 2 solo

FIG. 2

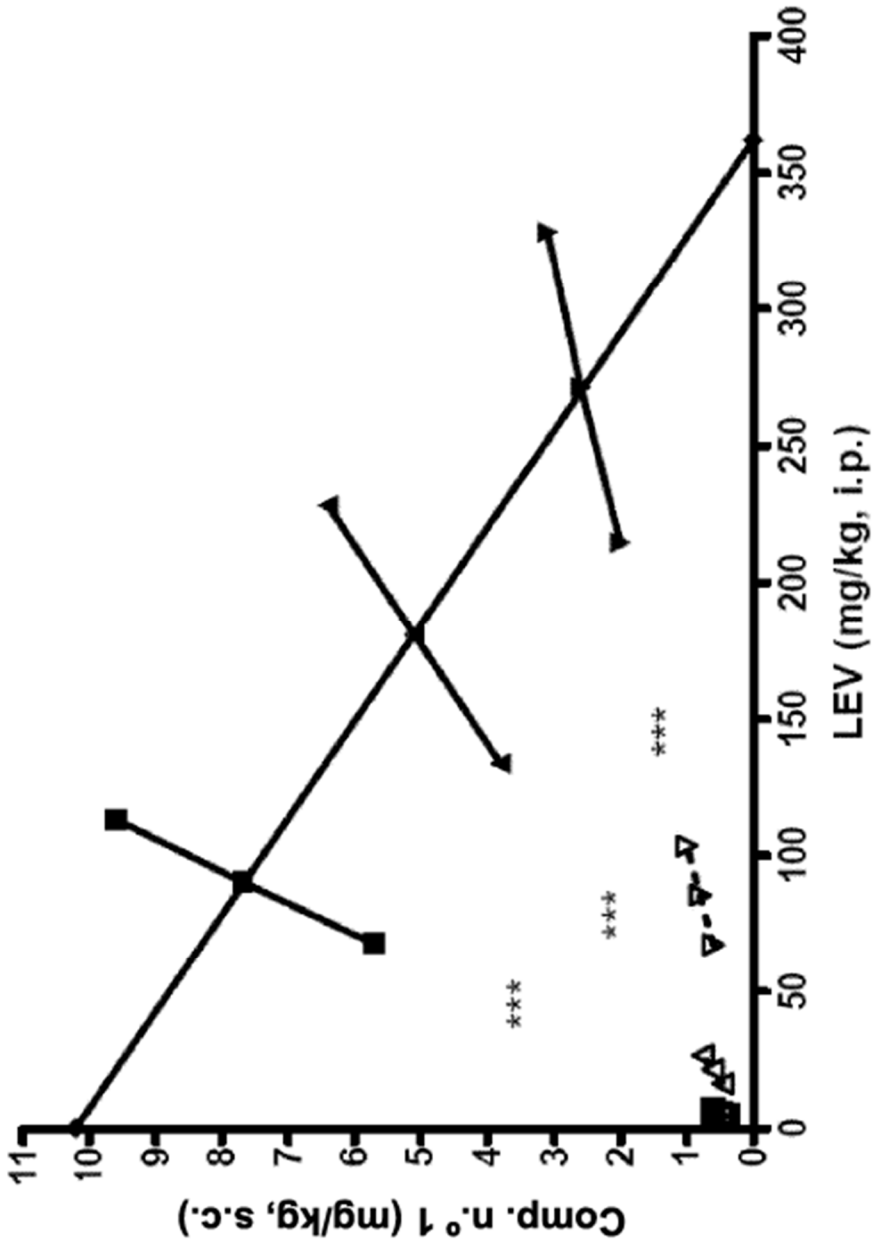

Comp. n.° 1 (mg/kg, s.c.)
LEV (mg/kg, i.p.)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
0
50
100
150
200
250
300
350
400
***
***
***

FIG. 3

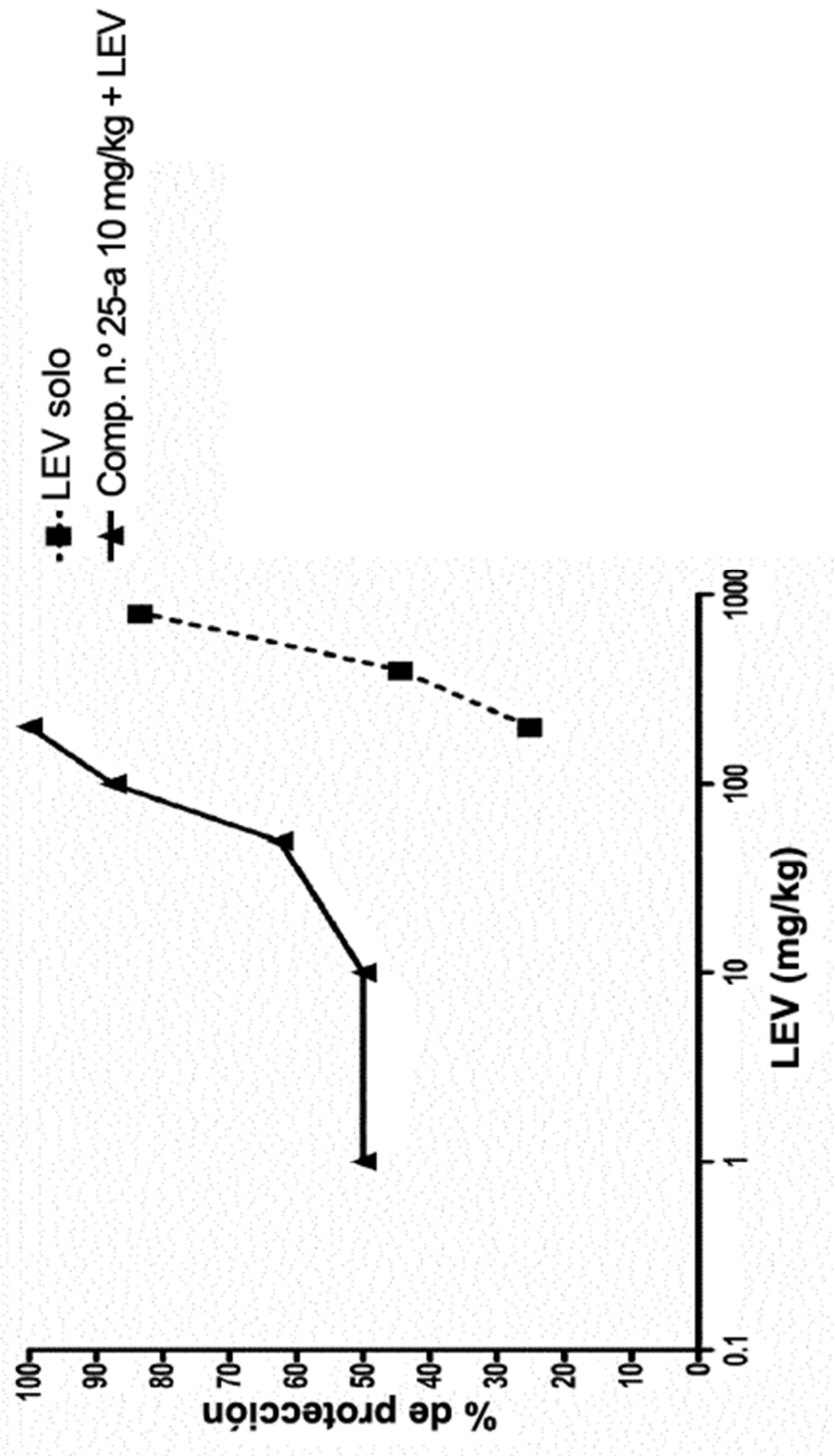

LEV solo
Comp. n.º 25-a 10 mg/kg + LEV
% de protección
LEV (mg/kg)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0.1
1
10
100
1000

FIG. 4

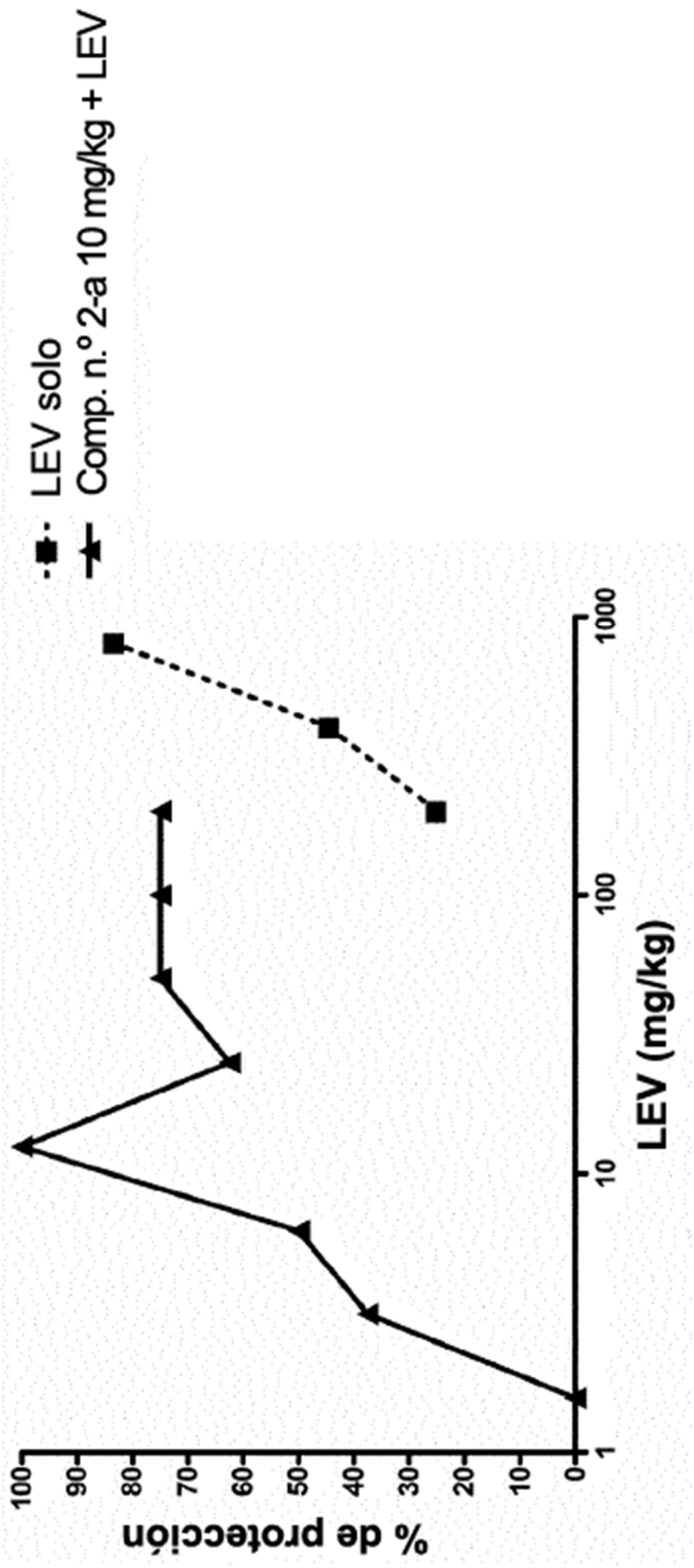

LEV solo
Comp. n.º 2-a 10 mg/kg + LEV
% de protección
LEV (mg/kg)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
10
100
1000

FIG. 5

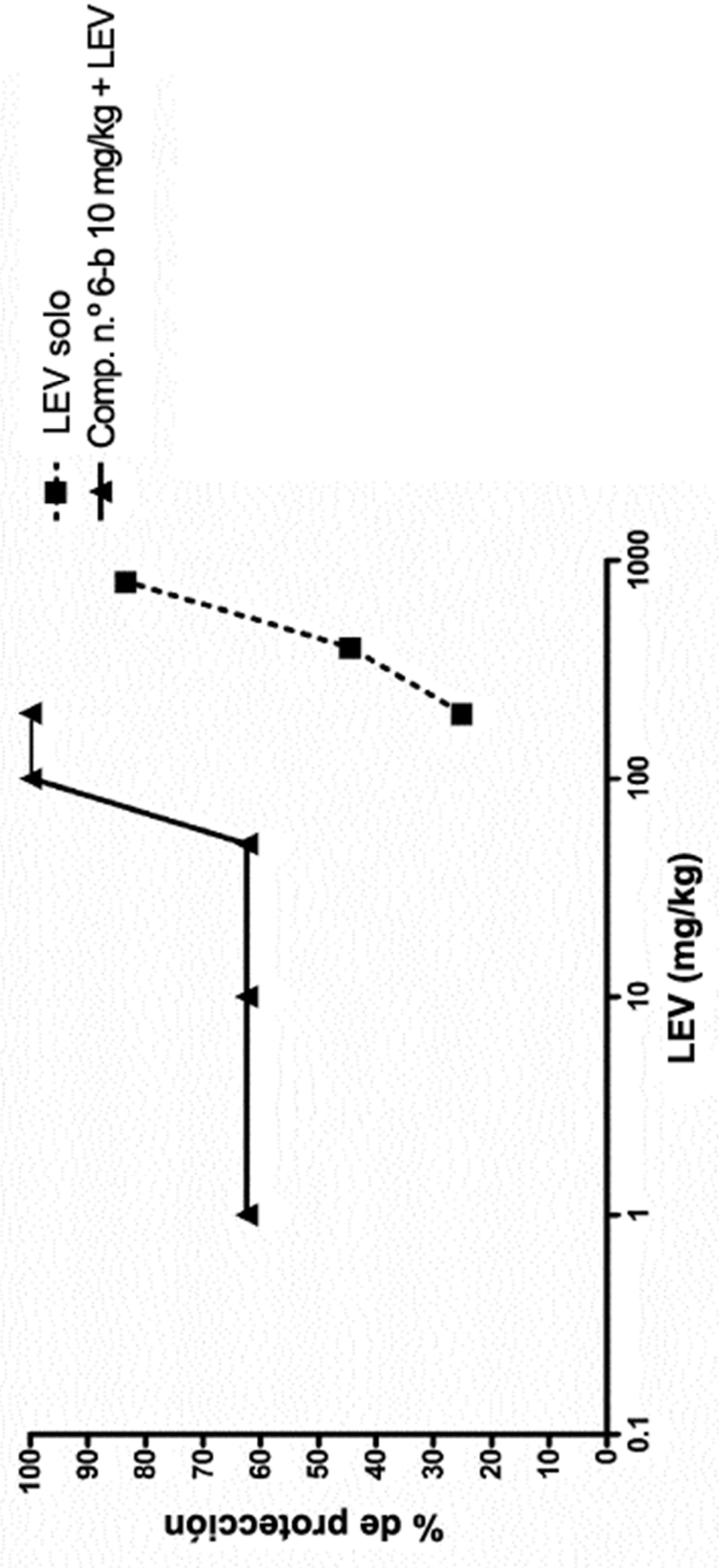
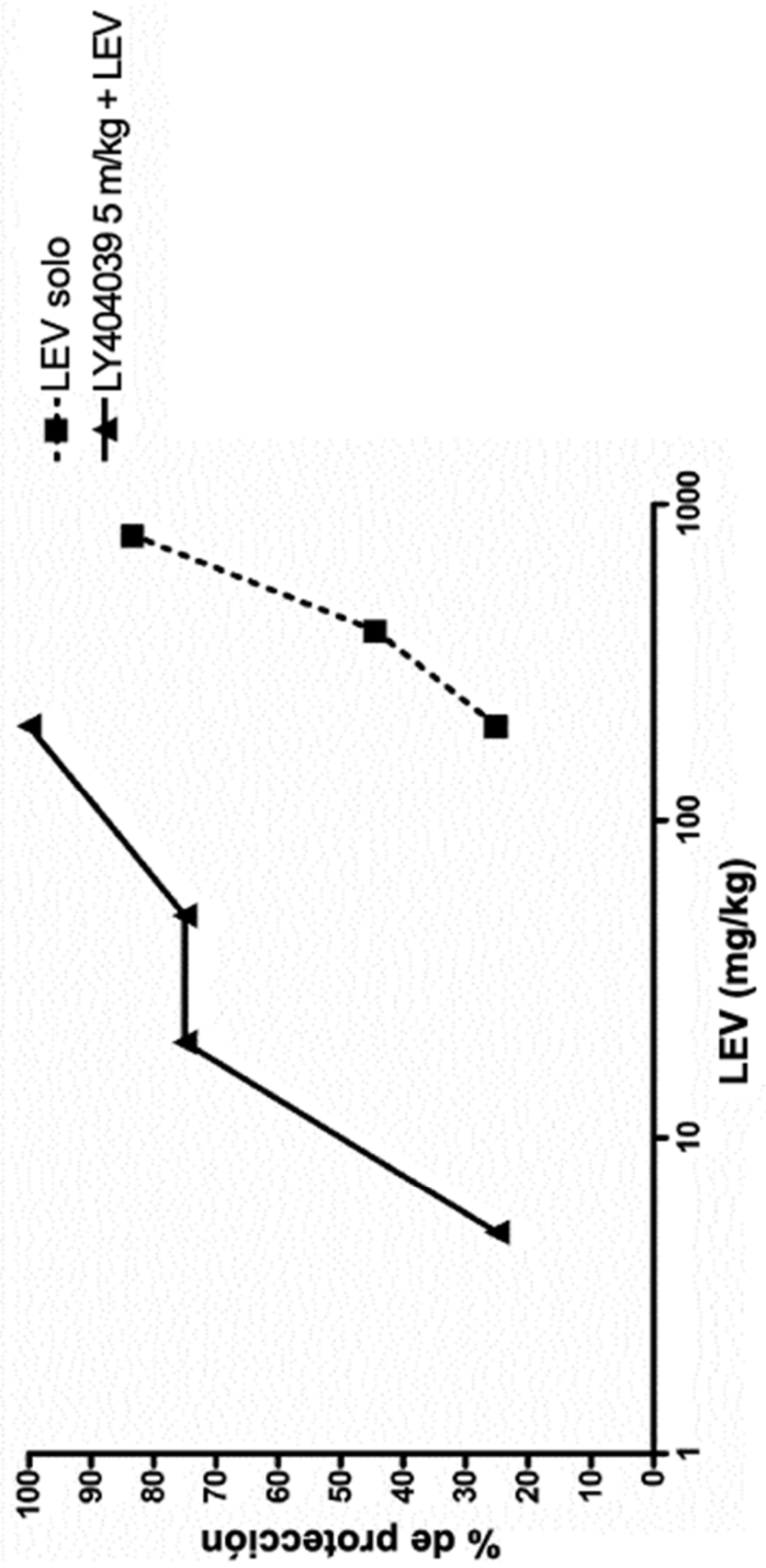

LEV solo
Comp. n.º 6-b 10 mg/kg + LEV
% de protección
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
0.1
1
10
100
1000
LEV (mg/kg)

FIG. 6


LEV solo
LY404039 5 m/kg + LEV
% de protección
LEV (mg/kg)
0
10
20
30
40
50
60
70
80
90
100
1
10
100
1000