(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 751 138**

(51) Int. Cl.:

A61K 31/198 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 25/14 (2006.01)
A61P 25/04 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2014** **E 17170079 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.09.2019** **EP 3228313**

(54) Título: **Formas de dosificación y usos terapéuticos de la L-4-cloroquinurenina**

(30) Prioridad:

22.01.2013 US 201361849191 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.03.2020

(73) Titular/es:

VISTAGEN THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
343 Allerton Avenue
South San Francisco, CA 94080, US

(72) Inventor/es:

SNODGRASS, RALPH H.;
CATO, ALLEN E. y
HICKLIN, JACK S.

(74) Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 751 138 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Formas de dosificación y usos terapéuticos de la L-4-cloroquinurenina

Campo de la invención

La presente divulgación se relaciona con composiciones de L-4- cloroquinurenina (L-4-Cl-KYN) en forma de dosis unitaria y con el uso de estas composiciones para el tratamiento de afecciones neurológicas. La presente invención se relaciona con composiciones de L-4-cloroquinurenina (L-4-Cl-KYN) en forma de dosis unitaria y con el uso de estas composiciones para el tratamiento de depresión y disquinesias asociadas a la L-DOPA, donde la composición está formulada para administración oral. La presente invención se relaciona con L-4- cloroquinurenina para su uso en un método para tratar depresión, por administración oral de una cantidad terapéuticamente eficaz de L-4-cloroquinurenina a un paciente.

Antecedentes de la invención

El ácido glutámico es un importante neurotransmisor excitatorio en el sistema nervioso central de los mamíferos y se halla implicado en la regulación de varias rutas diferentes. Se han descrito asociaciones entre un excesivo ácido glutámico endógeno y diversos trastornos neurológicos, tanto agudos como crónicos, tales como isquemia cerebral, epilepsia, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer.

Se sabe que la transmisión glutamatérgica hiperactiva a través de los receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA) (NMDA-R) desempeña un papel clave en varias afecciones neurológicas, tales como el dolor neuropático, por ejemplo. Sin embargo, los antagonistas de NMDA-R de acción directa producen una serie de efectos colaterales, tales como psicosis, que han limitado su utilidad terapéutica. También se puede conseguir el antagonismo de los NMDA-R por bloqueo de un sitio modulador sobre el NMDA-R, conocido como el sitio coagonista glicina B (GlyB). (La Referencia 8, y las citas a esta referencia y las otras citadas de este modo, son presentadas más adelante). Cuando se comparan con los antagonistas de NMDA-R clásicos, los antagonistas de GlyB tienen un perfil de seguridad mucho mejor y no causan los efectos colaterales adversos que van asociados a los antagonistas de NMDA-R "clásicos". (Referencias 1, 6 y 10).

Los antagonistas de GlyB también han mostrado reducir la hiperalgesia y la alodinia en modelos de dolor neuropático *ex vivo* y en animales, y tienen menos efectos colaterales que los antagonistas de NMDA-R clásicos, lo que hace de ellos una alternativa más segura como analgésicos potenciales. Véase, por ejemplo, la Referencia 2.

Uno de los antagonistas de GlyB más potentes y específicos actualmente conocidos es el ácido 7-cloroquinurénico (7-Cl-KYNA), que es un análogo clorado sintético de un neuromodulador endógeno, el ácido quinurénico. El ácido 7-cloroquinurénico ha mostrado prevenir el daño neuronal excitotóxico e isquémico, pero al igual que la mayoría de los antagonistas de GlyB no atraviesa la barrera hematoencefálica. Por lo tanto, su uso clínico es limitado. (Referencias 4 y 9).

Por el contrario, la L-4-cloroquinurenina, un profármaco del ácido 7-cloroquinurénico, entra fácilmente en el sistema nervioso central (SNC) tras su administración. (Referencias 3, 5, 11 y 12). La L-4-cloroquinurenina se convierte eficientemente en ácido 7-cloroquinurénico en astrocitos activados, (Referencia 5) y los niveles cerebrales de ácido 7-cloroquinurénico aumentan en sitios de lesión neuronal o de agresión excitotóxica como resultado de la activación de los astrocitos. (Referencia 5) Se describe la actividad y el metabolismo de la L-4-cloroquinurenina en pruebas con animales, por ejemplo, en Wu H. *et al.* (European Journal of Pharmacology 390 (2000) 267-274), Lee S. *et al.* (Neuroscience Letters 304 (2001) 185-188), Guidetti P. *et al.* (Experimental Neurology 163 (1) (2000) 123-130), Linderholm K. L. *et al.* (Neuropharmacology 53 (2007) 918-924) y Wu H. *et al.* (European Journal of Pharmacology 319 (1997) 13-20).

En estudios preclínicos, la L-4-cloroquinurenina ha mostrado actividad anticonvulsiva en ratas. (Referencia 11). También se vio que el compuesto aumenta la velocidad de descarga y la actividad de descarga en estallido de las neuronas dopaminérgicas en los cerebros de ratas. (Referencia 7).

Se describieron métodos para la síntesis de una clase de derivados de quinureninas 4,6-disubstituidos, incluyendo la L-4-cloroquinurenina, y su uso como antagonistas del receptor de NMDA en la Patente Estadounidense Nº 5.547.991 de Palfreyman *et al.* (1996). También se describieron composiciones farmacéuticas que contenían estos compuestos y su uso terapéutico. El documento US 2011/306674 describe una combinación farmacéutica consistente en un antagonista de NMDA y un compuesto de 3-(3-dimetilamino-1-etil-2-metilpropil)fenol para el tratamiento del dolor.

Sumario de la invención

En las reivindicaciones, se exponen la invención y diversas realizaciones que forman parte de esta solicitud de

patente.

En un aspecto preferido, la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que consisten, por dosis unitaria, esencialmente en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de aproximadamente 360, 1.080 ó 1.440 mg, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como soportes y excipientes, donde la composición está formulada para administración oral. Otro aspecto de la divulgación conlleva la administración de cantidades terapéuticamente efectivas de estos compuestos para tratar afecciones, trastornos y enfermedades causadas por una disfunción neurológica.

Otro aspecto de la invención se relaciona con protocolos de dosificación para las composiciones de la invención, tales como la administración de una dosis diaria de 1 a aproximadamente 14 o de 1 a aproximadamente 30 días, más preferiblemente de aproximadamente 7 a aproximadamente 24 días, y más preferiblemente de aproximadamente 12 a aproximadamente 16 días.

Otro aspecto de la divulgación se relaciona con composiciones para uso en métodos para el tratamiento de la depresión y para el tratamiento de varios tipos de dolor, incluyendo hiperalgesia, por administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina.

En otro aspecto, la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas para uso en métodos terapéuticos de administración de L-4-cloroquinurenina en una cantidad que produce niveles plasmáticos de ácido 7-cloroquinurénico como se describe en esta solicitud. Un aspecto preferido de la invención se relaciona con L-4-cloroquinurenina para uso en un método que incluye la administración de L-4-cloroquinurenina a una dosis suficiente para producir niveles plasmáticos de ácido 7-cloroquinurénico de aproximadamente 15 ng/ml a 550 ng/ml.

Otro aspecto de la invención se relaciona con un producto farmacéutico de combinación para su uso en métodos asociados que comprenden formulaciones que incluyen L-DOPA y la composición farmacéutica de L-4-cloroquinurenina descrita en esta solicitud, y con su coadministración, ya sea simultánea o secuencialmente, a las dosificaciones descritas en la solicitud para reducir las disquinesias asociadas a la L-DOPA.

Breve descripción de los dibujos

Las siguientes figuras, que se describen a continuación, y que se incorporan en y constituyen una parte de la memoria descriptiva, ilustran realizaciones ejemplares según la divulgación y no deben considerarse limitantes del alcance de la invención, de modo que la invención pueda admitir otras realizaciones igualmente efectivas. Las figuras no están necesariamente a escala, y se pueden mostrar ciertas características y ciertas vistas de las figuras de una manera exagerada en cuanto a escala o en cuanto a esquema por razones de claridad y concisión.

La Fig. 1 representa las concentraciones plasmáticas medias (n = 12 ó 13) de la L-4-cloroquinurenina los días 1 y 14 tras la administración oral de dosis de L-4-cloroquinurenina una vez al día.

La Fig. 2 representa las concentraciones plasmáticas medias (n = 12 ó 13) del ácido 7-cloroquinurénico los días 1 y 14 tras la administración oral de dosis de L-4-cloroquinurenina una vez al día.

Descripción detallada de la invención

Se describe la invención a continuación, haciendo referencia a realizaciones ilustrativas detalladas. Resultará evidente que la invención puede ser llevada a cabo en una amplia variedad de formas, algunas de las cuales pueden ser bastante diferentes de las de las realizaciones desveladas. Por consiguiente, los detalles estructurales y funcionales específicos que se desvelan a continuación son meramente representativos y no limitan el alcance de la invención.

En un trabajo respaldado por una subvención de los Institutos Nacionales de la Salud, se vio que la L-4-cloroquinurenina (también conocida como VistaGen AV-101) tenía potentes acciones antihiperalgésicas en tres modelos animales de inflamación de tejidos periféricos y lesión de nervios sin evidencia de efectos colaterales. En general, en los modelos animales, la L-4-cloroquinurenina era bien tolerada y no producía seguridad o toxicidad a las dosis que producen efectos antihiperalgésicos en los modelos animales.

La presente invención se basa en los hallazgos clínicos de los inventores de que ciertas dosis de L-4-cloroquinurenina son ciertamente seguras y tolerables en humanos sin efectos colaterales substanciales o cualquier efecto adverso significativo. Además, se vio de manera sorprendente que, a dichas dosificaciones, los sujetos referían alivio del dolor neuropático, concretamente del dolor por hiperalgesia. El compuesto es un antihiperalgésico. También se vio de manera sorprendente que un número substancial de sujetos en el estudio clínico referían sensaciones positivas de "bienestar" por la administración de L-4-cloroquinurenina, un indicador de actividad antidepresiva, mientras que los controles con placebo no lo refirieron.

La presente divulgación se relaciona con composiciones para uso en métodos terapéuticos para tratar varios tipos

de trastornos neurológicos, neuropatías (tanto centrales como periféricas) y disfunciones tales como aquellas causadas por: (a) lesiones y toxicidades por fármacos tal como el resultado de quimioterapia y fármacos anti-virales; (b) enfermedades y trastornos neurodegenerativos tales como diabetes, cáncer, infección viral, esclerosis múltiple, espondilitis, polineuritis, cirugía, amputación, epilepsia, convulsiones, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y enfermedad de Alzheimer y aquellas enfermedades y afecciones que implican transmisión glutamatérgica sobreactiva a través de receptores de N-metil-D-aspartato; y (c) desequilibrios en neurotransmisores, receptores y rutas de señalización asociadas con la depresión y otros trastornos psiquiátricos. El tratamiento del dolor se contempla expresamente incluyendo, pero sin limitación, dolor neurogénico, dolor espontáneo, dolor por hiperalgesia por alodinia, dolor por hiperalgesia mecánica y dolor por hiperalgesia por calor. Además, el uso en un método de tratamiento de la depresión en un aspecto de la presente invención.

Definiciones:

"Consistente esencialmente en" una cantidad especificada de un principio farmacéuticamente activo significa que no hay ninguna cantidad adicional de ese principio. No se excluye la presencia de otros ingredientes, por ejemplo, excipientes y/o lubricantes, y similares, o diferentes principios farmacéuticamente activos en combinación. Por ejemplo, se contempla expresamente la combinación de L-DOPA con 4-cloroquinurenina, al igual que otras composiciones y métodos para su administración que incluyen 4-cloroquinurenina más otro principio activo y que se dan simultánea o secuencialmente, pero en un marco temporal en el que tienen substancialmente el mismo efecto terapéutico que si se hubieran administrado en un solo producto farmacéutico de combinación.

"Unidad de dosis farmacéutica", "dosis unitaria" o "forma de dosis unitaria" significa una única dosis de L-4-cloroquinurenina, la cual es capaz de ser administrada a un sujeto y que puede ser fácilmente manipulada y envasada, permaneciendo como una dosis unitaria física y químicamente estable.

"Terapéuticamente efectiva" significa que la cantidad de L-4-cloroquinurenina administrada y convertida en ácido 7-cloroquinurénico actúa para regular a menos la transmisión de señal mediada por NMDA-R que es suficiente para producir una mejoría clínica en la función neurológica, tal como una disminución en el dolor neuropático o un aumento en las sensaciones de bienestar.

"Sin efectos adversos significativos" significa que substancialmente todos los pacientes a quienes se administra L-4-cloroquinurenina no tendrán más que un episodio adverso "leve" según define la Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. La FDA define un "episodio adverso leve" como un episodio que es fácilmente tolerado por el sujeto, que causa una incomodidad mínima y que no interfiere con las actividades cotidianas. Por el contrario, un "episodio adverso moderado" es un episodio que causa la suficiente incomodidad como para interferir con las actividades cotidianas normales.

Composiciones farmacéuticas:

Se ha sintetizado la L-4-cloroquinurenina por los métodos de Palfreyman *et al.*, Patente Estadounidense Nº 5.547.991. También se han reportado procedimientos de síntesis más recientes en la literatura médica, tal como Salituro *et al.*, "Enzyme-Activated Antagonists of the Strychnine-Insensitive Glycine/NMDA Receptor, J. Med. Chem. 1994; 37-334, 336. La L-4-cloroquinurenina puede también ser adquirida comercialmente de varias fuentes, incluyendo BOC Sciences (Shirley, NY, EE.UU.) y Advanced Technology & Industrial Co., Ltd. (Hong Kong, China). Cambridge Major Laboratories (Germantown, WI, EE.UU.) fabricó la L-4-cloroquinurenina usada en el estudio clínico que se discute en esta solicitud de patente.

Una realización preferida de la invención se relaciona con composiciones farmacéuticas que comprenden una dosis unitaria de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina que se formula para administración oral, junto con soportes y excipientes farmacéuticamente aceptables.

Una composición farmacéutica de la invención puede ser formulada en una forma farmacéutica para administración oral que contenga L-4-cloroquinurenina según la invención y que produzca un nivel en el plasma sanguíneo de ácido 7-cloroquinurénico como se describe en esta solicitud. Se contempla que las dosificaciones exactas de L-4-cloroquinurenina que se han de administrar dentro de los rangos descritos para la presente invención deben ser seguras y efectivas, y que produzcan niveles plasmáticos de ácido 7-cloroquinurénico resultantes de la administración de L-4-cloroquinurenina como se describe en esta solicitud de patente en la Fig. 2 y en otros lugares. Por lo tanto, se contemplan expresamente rangos plasmáticos de ácido 7-cloroquinurénico de aproximadamente 15 ng/ml a aproximadamente 65 ng/ml, de aproximadamente 65 ng/ml a aproximadamente 300 ng/ml y de aproximadamente 300 ng/ml a aproximadamente 550 ng/ml. También se contempla que la formulación de dosis unitaria de la presente invención pueda ser administrada una o más veces al día, con objeto de prolongar el período de tiempo en el que los niveles de 4-cloroquinurenina se elevan a una cantidad terapéuticamente efectiva de ácido 7-cloroquinurénico.

Las composiciones farmacéuticas de dosis unitaria de L-4-cloroquinurenina para administración oral preferiblemente contienen de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 1.800 mg, más preferiblemente de aproximadamente

260 mg a aproximadamente 1.540 mg, más preferiblemente de aproximadamente 260 mg a aproximadamente 460 mg, de aproximadamente 310 mg a aproximadamente 410 mg, de aproximadamente 980 mg a aproximadamente 1.180 mg, de aproximadamente 1.030 mg a aproximadamente 1.130 mg, de aproximadamente 1.340 a aproximadamente 1.540 mg, de aproximadamente 1.390 mg a aproximadamente 1.490 mg y más preferiblemente aproximadamente 360, 1.080 ó 1.440 mg.

Se contempla que los regímenes de dosificación para las composiciones de la presente invención sean terapéuticamente efectivos. Aunque se contempla un régimen de dosificación diario, como se ha descrito anteriormente, éste sería preferiblemente de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 días, incluyendo regímenes de dosificación más cortos y más largos según lo determine el médico de un paciente. En particular, se contemplan expresamente regímenes de dosificación de aproximadamente 7 a aproximadamente 24 días, y de aproximadamente 12 a aproximadamente 16 días.

Un aspecto preferido de la presente invención se relaciona con 4-cloroquinurenina conjuntamente con L-DOPA para su uso en un método para reducir la disquinesia asociada a las dosis de mantenimiento (típicamente determinadas de manera empírica para cada paciente por el médico) de L-DOPA, o para reducir la dosis mínima efectiva de L-DOPA, retrasando así la aparición y/o reduciendo la severidad de la disquinesia. Las composiciones farmacéuticas según la presente invención pueden ser administradas en combinación con L-DOPA, al mismo tiempo o lo suficientemente cerca en el tiempo como para mejorar los efectos colaterales de la administración de L-DOPA. Los protocolos para la administración de L-DOPA son bien conocidos, como lo son las disquinesias asociadas. Véase, por ejemplo, Tambasco, N. *et al.*, "Clinical Aspects and Management of Levodopa-Induces Dyskinesia", Parkinson's Disease 2012, Artículo ID 745947, doi:10.1155/2012/745947.

La composición farmacéutica según la pretente divulgación puede ser, por ejemplo, una tableta, una cápsula, una suspensión líquida, una solución sólida, un gel blando, un inyectable, un inyectable, una preparación tópica o transdérmica, un supositorio y una preparación para administración nasal. La composición farmacéutica para administración oral según la presente invención puede ser, por ejemplo, una tableta, una cápsula, una suspensión líquida, una solución sólida o un gel blando. Adicionalmente, una composición farmacéutica de la presente invención puede también ser una forma de liberación modificada, tal como, aunque sin limitación, una forma de liberación bimodal o prolongada.

En general, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser preparadas por métodos convencionales conocidos en la técnica de las formulaciones farmacéuticas. Por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990). En una forma de dosificación sólida, se puede mezclar L-4-cloroquinurenina con al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable, tal como, por ejemplo, citrato de sodio o fosfato dicálcico, o (a) cargas o expansores, tales como, por ejemplo, almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico; (b) ligantes, tales como, por ejemplo, derivados de celulosa, almidón, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma de acacia; (c) humectantes, tales como, por ejemplo, glicerol; (d) agentes desintegrantes, tales como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, croscarmelosa sodio, silicatos complejos y carbonato de sodio; (e) retardadores de solución, tales como, por ejemplo, parafina; (f) aceleradores de la absorción, tales como, por ejemplo, compuestos de amonio cuaternario; (g) agentes hidratantes, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, estearato de magnesio y similares; (h) adsorbentes, tales como, por ejemplo, caolín y bentonita, e (i) lubricantes, tales como, por ejemplo, talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, o sus mezclas. En el caso de las cápsulas, de las tabletas y de las píldoras, las formas de dosificación pueden también incluir agentes tamponantes.

También se pueden usar adyuvantes farmacéuticamente aceptables conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica en las composiciones farmacéuticas de la invención. Éstos incluyen, aunque sin limitación, agentes conservantes, hidratantes, suspensores, edulcorantes, saborizantes, perfumantes, emulsionantes y dispersantes. Se puede asegurar la prevención de la acción de los microorganismos mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenes, clorobutanol, fenol, ácido sórbico y similares. Puede ser también deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y similares. Si se desea, una composición farmacéutica de la invención puede también contener cantidades menores de substancias auxiliares, tales como agentes hidratantes o emulsionantes, agentes tamponantes del pH, antioxidantes y similares, tales como, por ejemplo, ácido cítrico, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina, hidroxitolueno butilado, etc.

Se pueden preparar formas de dosificación sólidas como las antes descritas con revestimientos y envueltas, tales como revestimientos entéricos y otros bien conocidos en la técnica. Pueden contener agentes opacificantes, y pueden también ser de una composición tal que liberen el compuesto o compuestos activos en una determinada parte del tracto intestinal de un modo retardado. Son ejemplos no limitantes de composiciones embebidas que pueden ser usadas substancias poliméricas y ceras. Los compuestos activos pueden estar también en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes antes mencionados.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes suspensores, tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietilensorbitol y sorbitán, celulosa microcristalina,

metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto, o mezclas de estas substancias, y similares.

Las composiciones para administración rectal son, por ejemplo, supositorios, que pueden ser preparados mezclando L-4-cloroquinurenina según la invención con, por ejemplo, excipientes o soportes no irritantes adecuados, tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera de supositorio, que puede ser sólida a temperaturas ordinarias, pero que puede ser líquida a la temperatura corporal y, por lo tanto, fundirse mientras está en una cavidad corporal adecuada y liberar el componente activo en ella.

Estudio clínico:

Se realizó un estudio controlado con placebo, doble ciego, aleatorizado, de un solo sitio y de Fase 1b que implicaba múltiples dosis orales de AV-101 en varones y mujeres sanas. Se distribuyó aleatoriamente a los sujetos en una de tres cohortes (360, 1.080 y 1.440 mg) y recibieron una dosis oral diaria durante 14 días consecutivos. Cada cohorte incluía originalmente a 12 sujetos con fármaco activo y 4 sujetos con placebo. Se valoraron la seguridad, la farmacocinética (FC), la tolerabilidad del tratamiento y el efecto antihiperalgésico de AV-101 sobre la hiperalgesia inducida con capsaicina.

Se derivaron los siguientes parámetros FC a partir de los perfiles de concentración plasmática frente al tiempo para determinar el perfil FC con una sola dosis y con múltiples dosis de AV-101 (L-4-cloroquinurenina) y el metabolito activo, el ácido 7-cloroquinurénico: Concentración máxima (Cmáx), Semivida de eliminación terminal (t1/2), Tiempo hasta la concentración máxima (Tmáx), Área bajo la curva de la concentración del fármaco del estudio en plasma frente al tiempo desde el Tiempo 0 hasta el tiempo de la última concentración medible (AUC0-t) y Área bajo la curva de la concentración del fármaco del estudio en plasma frente al tiempo desde el Tiempo 0 extrapolada hasta el infinito (AUC0-∞).

Se recogió sangre en tubos Vacutainer con heparina litio de 6 ml. Se centrifugaron las muestras y se separó el plasma de las células y se congeló en los 30 minutos siguientes a la centrifugación. Se pusieron las muestras centrifugadas sobre hielo hasta colocarlas en el congelador. Se almacenaron las muestras de plasma congeladas a aproximadamente -20°C hasta su envío a un contratista para su análisis.

Se recogieron muestras basales (0 minutos) antes de administrar el fármaco el Día 1 y el Día 14. Se recogieron entonces muestras a las 0,5, 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas tras la dosificación el Día 1 y el Día 14.

Se usó un ensayo de cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem para la determinación del ácido 7-cloroquinurénico y la L-4-cloroquinurenina en el plasma humano. El rango de la curva patrón era de 2,00 a 1.000 ng/ml para el ácido 7-cloroquinurénico, con un límite inferior de cuantificación de 2,00 ng/ml. El rango de la curva patrón era de 0,05 a 50 μg/ml para la L-4-Cl-KYN, con un límite inferior de cuantificación de 0,05 μg/ml. Ambos ensayos usaron un volumen de muestra de plasma de 50,0 μl.

Se caracterizó por completo la FC de AV-101 en todo el rango de dosis del estudio. Los perfiles de concentración plasmática-tiempo obtenidos para la L-4-cloroquinurenina y el ácido 7-cloroquinurénico tras la administración de una sola dosis y de múltiples dosis orales una vez al día de 360, 1.080 ó 1.440 mg eran consistentes con la rápida absorción de la dosis oral y la eliminación de primer orden de ambos analitos, con evidencia de cinética de múltiples compartimentos, en particular para el metabolito ácido 7-cloroquinurénico. Los valores medios de Tmáx para la L-4-cloroquinurenina aumentaron al aumentar el nivel de dosis, alcanzando casi 2 horas para el grupo de la dosis más alta. Los valores medios de t1/2 eran bastante consistentes en todas las dosis, yendo de 1,64 a 1,82 horas. Los valores medios de Cmáx y AUC0-∞ para la L-4-cloroquinurenina parecieron ser aproximadamente lineales con la dosis, aunque no proporcionales. Los valores medios de Cmáx el Día 1 iban de 27,7 μg/ml tras la dosis de 360 mg a 64,4 μg/ml tras la dosis de 1.440 mg. Los valores medios de AUC0-t el Día 1 iban de 64 μg·h/ml tras la dosis más baja a 196 μg·h/ml tras la dosis de 1.440 mg. Los valores medios de Cmáx y AUC0-t eran la mayoría de las veces ligeramente inferiores el Día 14 a los del Día 1.

En general, como se espera para un metabolito, las concentraciones máximas de ácido 7-cloroquinurénico se producían al mismo tiempo o después que las de la L-4-cloroquinurenina, con valores medios de Tmáx de 1,67 a 2,34 horas. Se muestra esto en las Figs. 1 y 2. Los valores medios de t1/2, que iban de 2,52 a 3,23 horas, eran ligeramente más variables a través de las dosis que los de la L-4-cloroquinurenina. Los valores medios de t1/2 no parecían estar relacionados con la dosis. Los valores medios de Cmáx y AUC0-t del ácido 7-cloroquinurénico también parecían ser aproximadamente lineales con la dosis. Los valores medios de Cmáx el Día 1 iban de 42,7 ng/ml tras la dosis de 360 mg a 314 ng/ml tras la dosis de 1.440 mg. Los valores medios de AUC0-t el Día 1 iban de 156 ng·h/ml tras la dosis más baja a 985 ng·h/ml tras la dosis de 1.440 mg. De forma similar al compuesto parental, los valores medios de Cmáx y AUC0-t para el ácido 7-cloroquinurénico eran generalmente ligeramente inferiores el Día 14 a los del Día 1.

EJEMPLO 1: Efecto antihiperalgésico de L-4-cloroquinurenina sobre la hiperalgesia inducida por capsaicina (ejemplo de referencia).

El Día 1 y el Día 14 del estudio clínico, se inyectaron dos inyecciones intradérmicas de 250 μg de capsaicina secuencialmente en la cara volar de antebrazos alternos para producir ardor, hiperalgesia secundaria y una erupción. Se preparó la capsaicina USP (Farmacopea de los Estados Unidos) según el procedimiento estándar del sitio y se disolvió en ciclodextrina al 20% a una concentración de 10 mg/ml.

Se administró la primera inyección de capsaicina en un antebrazo 1 hora después de la administración oral de AV-101 o placebo, y se administró la segunda inyección de capsaicina en el otro antebrazo 2 horas después de la administración de AV-101 o placebo. El estudio neurosensorial comenzó inmediatamente en cada inyección de capsaicina. Se hicieron las valoraciones de dolor seriadas usando una escala análoga visual (EAV) de 100 mm en la preinyección y a los 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos después de cada inyección de capsaicina. El examinador pidió al sujeto que valorara la intensidad usando la EAV del dolor espontáneo y del dolor provocado por la aplicación de un pelo 5,18 von Frey, sonda de 40°C y suaves golpes con un cepillo de espuma de 1 pulgada. La EAV consistía en una línea de 100 mm con "sin dolor" escrito en el extremo de los 0 mm y el "peor dolor imaginable" escrito en el extremo de los 100 mm. La distancia en milímetros proporcionaba la medición del dolor.

Se determinaron los límites del área hiperalgésica para un pelo 5,18 von Frey moviendo desde un área de la piel que no producía dolor tangencialmente hacia el centro del área dolorosa en un radio progresivamente más próximo hasta que el sujeto refirió dolor o sensibilidad. Se hicieron al menos ocho determinaciones de los límites del área hiperalgésica usando las mismas valoraciones y comenzando en diferentes ángulos. Además, se pidió a los sujetos que valoraran la intensidad del dolor de un estímulo de calor de 45°C durante 1 minuto (breve estimulación térmica) aplicado al muslo anterior a las 4,5 horas (±5 minutos) después de la administración del fármaco del estudio, y luego cada 30 minutos (±5 minutos) hasta las 6 horas después de la administración del fármaco del estudio. Se aplicó una sonda de temperatura radiante para fijar la temperatura de la piel a 36°C durante las valoraciones del dolor. Los sujetos utilizaron la EAV para todas las valoraciones del dolor.

Todos los puntos temporales de valoración del estudio fueron anclados en el Tiempo 0, el tiempo de la administración del fármaco del estudio. Para la inyección de capsaicina a 1 hora tras la dosificación, el intervalo de valoración (es decir, el tiempo tras la dosificación del fármaco del estudio) era de 60 a 120 minutos, durante los cuales se hicieron las valoraciones a aproximadamente 60, 65, 70 y 75 minutos y luego cada 15 minutos hasta el punto de tiempo de los 120 minutos (es decir, 0, 5, 10, 15, 30, 45 y 60 minutos tras la inyección de capsaicina). Se administró la segunda inyección de capsaicina aproximadamente 2 horas después de la dosificación del material de la prueba clínica (MPC), y el intervalo de valoración (es decir, el tiempo tras la dosificación del MPC) era de 120 a 180 minutos. Las valoraciones de dolor seriadas siguieron el mismo esquema, como se describe tras la primera inyección de capsaicina.

El criterio de valoración primario de la eficacia era la respuesta analgésica al dolor espontáneo a cada nivel de dosis de AV-101 de 120 a 180 minutos después de la dosificación el Día 14. No hubo cambios significativos en el área bajo la curva del dolor-tiempo (AUPC) para la valoración del dolor espontáneo entre los grupos de tratamiento y de placebo. De igual modo, no hubo cambios significativos entre los grupos de tratamiento y de placebo para cualquiera de los criterios de valoración secundarios de la eficacia (AUPC para el dolor espontáneo para el intervalo de tiempo de 120 a 180 minutos tras la dosificación el Día 1; y AUPC para el dolor espontáneo, el dolor provocado por el pelo de von Frey y el dolor provocado por la sonda a 40°C para el intervalo de tiempo de 60 a 180 minutos tras la dosificación los Días 1 y 14). Sin embargo, los presentes inventores vieron una disminución consistente en las medias de los mínimos cuadrados del AUPC para el dolor de alodinia, el dolor de hiperalgesia mecánica y el dolor de hiperalgesia por calor entre los sujetos que recibieron 1.080 mg de AV-101 (Cohorte 2) y los sujetos que recibieron placebo. Estos datos son mostrados en la Tabla 1.

Tabla 1: Puntuaciones de la evaluación del dolor

Alogesia por calor			
	n	Dolor máx.	DM Desv. est.
placebo	4	84,75	5,74
1.080 mg	13	78,85	16,22
Alogesia mecánica			
	n	Dolor máx.	DM Desv. est.
placebo	4	79,75	7,93
1.080 mg	13	66,23	25,60
Dolor por alodinia (cepillo de espuma)			
	n	Dolor máx.	DM Desv. est.
placebo	4	79,50	9,68
1.080 mg	13	70,92	21,63
Dolor espontáneo			
	n	Dolor máx.	DM Desv. est.

placebo	4	77,00	10,23
1.080 mg	13	75,08	23,33

EJEMPLO 2: Actividad antidepresiva de la L-4-cloroquinurenina

Los presentes inventores también vieron sorprendentemente una actividad potenciadora del humor o antidepresiva de la L-4-cloroquinurenina. En el estudio clínico descrito en esta solicitud, 5 de 26 sujetos (en contraste con cero sujetos en el grupo del placebo) refirieron afirmativamente sensaciones de bienestar. Esto es consistente con informes de que el sistema glutamatérgico contribuye a la fisiopatología de la depresión y de que el estrés puede inducir cambios en los receptores de NMDA. Véase, por ejemplo, Calabrese *et al.*, "Stress-Induced Changes of Hippocampal NMDA Receptors: Modulation by Duloxetine Treatment", PLoS ONE 2012, 7(5): e37916. doi:10,1371/journal.pone,0037916.

Resumiendo, la presente divulgación se relaciona, en general, con formas de dosificación de L-4-cloroquinurenina y su uso en métodos de tratamiento de afecciones neurológicas caracterizadas por una transmisión glutamatérgica hiperactiva mediada por los receptores de N-metil-D-aspartato, como se ha descrito anteriormente. Aunque ciertas realizaciones ejemplares han sido descritas con detalle en lo que antecede y se muestran en las figuras de dibujos acompañantes, hay que entender que dichas realizaciones son meramente ilustrativas y no restrictivas de la amplia invención. En particular, se ha de reconocer que las enseñanzas de la divulgación se aplican a una amplia variedad de enfermedades. Los expertos en la técnica reconocerán que se pueden hacer diversas modificaciones en las realizaciones ilustradas y en otras realizaciones de la divulgación antes descrita. Por lo tanto, se entenderá que la invención no se limita a las realizaciones o disposiciones particulares desveladas, sino que más bien pretende cubrir cualquier cambio, adaptación o modificación que se encuentre dentro del alcance y del espíritu de la invención tal como queda definida por las reivindicaciones adjuntas.

Las realizaciones preferidas de la invención son las siguientes:

1. Una composición farmacéutica que consiste esencialmente, por dosis unitaria, en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de aproximadamente 360, 1.080 o 1.440 mg, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes para su uso en un método para tratar la depresión, donde la composición está formulada para administración oral.

2. La composición farmacéutica para su uso según la realización 1 para su uso en un método para tratar afecciones causadas por disfunción neurológica que comprende la administración de una composición farmacéutica según la realización 1.

3. La composición farmacéutica para el uso de la realización 2, donde la composición farmacéutica se administra en una dosis diaria de uno a aproximadamente 30 días.

4. L-4-cloroquinurenina para su uso en un método para tratar la depresión por administración por vía oral de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina.

5. L-4-cloroquinurenina para su uso en un método de la realización 4 que comprende la administración de una composición farmacéutica según la realización 1.

6. L-4-cloroquinurenina para su uso en un método para tratar la hiperalgesia por administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina.

7. L-4-cloroquinurenina para su uso en un método de la realización 6 que comprende la administración de una composición farmacéutica según la realización 1.

8. Una formulación farmacéutica para su uso según realización 1 que consiste esencialmente, por dosis unitaria en L-4-cloroquinurenina en una cantidad que produce niveles en plasma de ácido 7-cloroquinurénico consistentes con la composición farmacéutica de la realización 1.

9. La formulación farmacéutica para el uso de la realización 8 donde los niveles en plasma de ácido 7-cloroquinurénico están en el rango de aproximadamente 15 ng/ml a 550 ng/ml.

10. Un producto farmacéutico de combinación que comprende L-DOPA y la composición farmacéutica de la realización 1.

11. L-4-cloroquinurenina para su uso en un método para reducir disquinesias asociadas a la L-DOPA que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina.

12. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, comprende L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1800 mg y L-DOPA, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes,

para su uso en un método para reducir las disquinesias asociadas a la L-DOPA, donde la composición está formulada para administración oral.

13. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, comprende esencialmente L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1800 mg y L-DOPA, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes, para su uso en un método para reducir disquinesias asociadas a la L-DOPA, donde composición está formulada para administración oral. Referencias:

Se mencionan los siguientes artículos de revistas y todas las demás publicaciones, patentes y textos en esta solicitud:

(1) Carter AJ. Glycine antagonist: Regulation of the NMDA receptor channel complex by the strychnine-insensitive glycine site. Drugs Future 1992;17:595-613.
(2) Catarzi et al., Competitive Gly/NMDA receptor antagonists, Curr. Top. Med. Chem. 2006;6(8):809-21.
(3) Hokari M, Wu H-Q, Schwarcz R, Smith QR. Facilitated brain uptake of 4-cloroquinurenina and conversion to 7- chlorokynurenic acid. Neuroreport 1996;8(1):15-18.
(4) Kemp JA, Foster AC, Leeson PD, Priestley T, Tridgett R, Iversen LL,et al. 7-Chlorokynurenic acid is a selective antagonist at the glycine modulatory site of the N-methyl-D-aspartate receptor complex. Proc Natl Acads Sci U.S.A. 1988;85(17):6547-6550.
(5) Lee S-C, Schwarcz R. Excitotoxic injury stimulates pro-drug-induced 7-chlorokynurenate formation in the rat striatum in vivo. Neuroscience Lett 2001;304(3):185-188.
(6) Leeson PD, Iversen LL. The glycine site on the NMDA receptor: Structure-activity relationships and therapeutic potential. J Med Chem 1994;37(24):4053-4067.
(7) Linderholm, et al., Activation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by endogenous kynurenic acid: a pharmacological analysis, Neuropharmacology 2007;53(8):918-924.
(8) Parsons CG, Danysz W, Quack G, Hartmann S, Lorenz B, Wollenburg C, et al. Novel systemically active antagonists of the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor: electrophysiological, biochemical and behavioral characterization. J Pharmacol Exp Ther 1997;283(3):1264-1275.
(9) Rao TS, Gray NM, Dappen MS, Cler JA, Mick SJ, Emmett MR, et al. Indole-2-carboxylates, novel antagonists of the N-methyl-D-aspartate (NMDA)-associated glycine recognition sites: in vivo characterization. Neuropharmacol 1993;32(2):139-147.
(10) Rundfeldt C, Wlaz P, Loscher W. Anticonvulsant activity of antagonists and partial agonists for the NMDA receptor-associated glycine site in the kindling model of epilepsy. Brain Res 1994;653(1-2):125-130.
(11) Wu HQ, Lee SC, Scharfman HE, Schwarcz R. L-4-cloroquinurenina attenuates kainate-induced seizures and lesions in the rat. Exp Neurol 2002;177(1):222-232.
(12) Wu H-Q, Lee S-C, Schwarcz R. Systemic administration of 4-cloroquinurenina prevents quinolinate neurotoxicity in the rat hippocampus. Eur J Pharm 2000;390:267-274.

REIVINDICACIONES

1. L-4-cloroquinurenina para uso en un método de tratamiento de la depresión, mediante administración de una cantidad terapéuticamente efectiva de L-4-cloroquinurenina a un paciente.

2. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, comprende L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1.800 mg, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como soportes y excipientes, para uso en un método para tratar la depresión, en donde la composición está formulada para administración oral.

3. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, consiste esencialmente en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1.800 mg, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes para su uso en un método para tratar la depresión, donde la composición está formulada para administración oral.

4. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde la composición por dosis unitaria consiste esencialmente en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 260 a 1.800 mg.

5. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde la composición por dosis unitaria consiste esencialmente en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 360, 1.080 o 1.440 mg.

6. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde la composición se administra sin efecto adverso significativo relacionado con el fármaco.

7. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde administrar la L-4-cloroquinurenina produce un nivel en plasma sanguíneo de ácido 7-cloroquinurénico de aproximadamente 15 ng/ml a aproximadamente 550 ng/ml.

8. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde administrar L-4-cloroquinurenina produce un nivel en plasma sanguíneo de ácido 7-cloroquinurénico de aproximadamente 5 ng/ml a aproximadamente 550 ng/ml en aproximadamente 0,5 a aproximadamente 6 horas después de su administración.

9. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde la composición se administra diariamente de 1 a 30 días.

10. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde la composición se administra diariamente de 7 a 24 días, preferiblemente de 12 a 16 días.

11. La composición farmacéutica para su uso en un método para tratar la depresión según la reivindicación 2 o la reivindicación 3, donde administrar la composición aumenta las sensaciones de bienestar en el paciente.

12. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, comprende L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1.800 mg y L-DOPA, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes, para su uso en un método para reducir las disquinesias asociadas a la L-DOPA, donde la composición está formulada para administración oral.

13. Composición farmacéutica que, por dosis unitaria, consiste esencialmente en L-4-cloroquinurenina en una cantidad de 50 a 1.800 mg and L-DOPA, junto con ingredientes farmacéuticamente aceptables tales como soportes y excipientes, para su uso en un método para reducir las disquinesias asociadas a la L-DOPA, donde la composición está formulada para administración oral.

14. La composición farmacéutica para su uso en un método para reducir las disquinesias asociadas a la L-DOPA según la reivindicación 12 o la reivindicación 13, donde la composición se administra sin efecto adverso significativo relacionado con el fármaco.

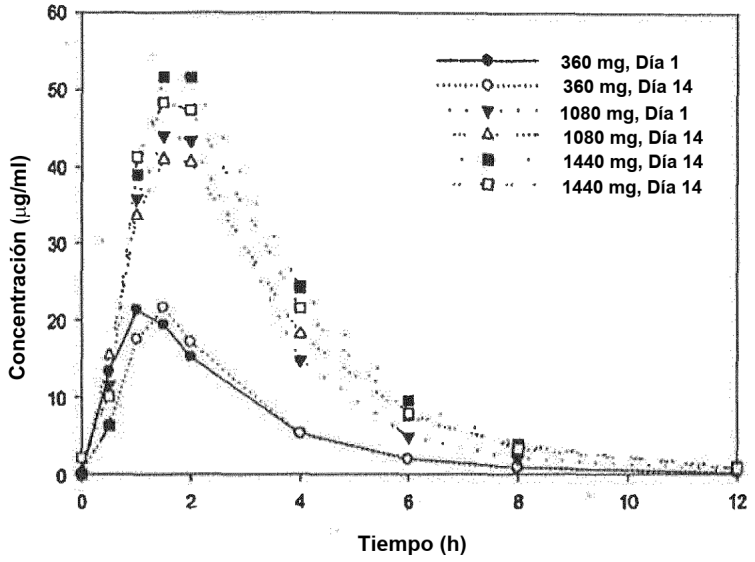

Figura 1. **Concentraciones plasmáticas medias (n = 12 ó 13) de L-4-cloroquinurenina los Días 1 y 14 tras la administración oral de dosis de AV-101 una vez al día.**

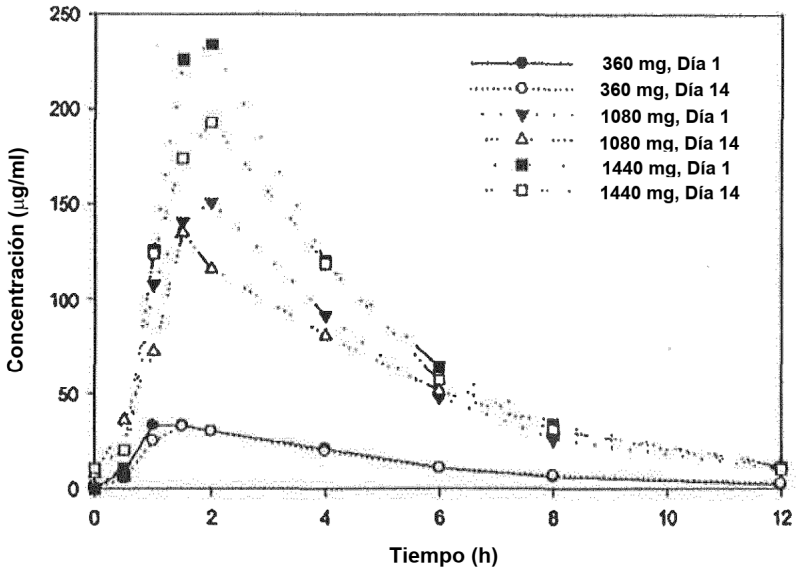

Figura 2. **Concentraciones plasmáticas medias (n = 12 ó 13) de ácido 7-cloroquinurénico los Días 1 y 14 tras la administración oral de dosis de AV-101 una vez al día.**