



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 316 808**

51 Int. Cl.:
A61K 31/5377 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03757945 .5**
96 Fecha de presentación : **09.10.2003**
97 Número de publicación de la solicitud: **1553952**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **20.07.2005**

54 Título: **Empleo de dihidroimidazolonas para el tratamiento de la epilepsia en perros.**

30 Prioridad: **10.10.2002 US 417590 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2009

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2009

73 Titular/es: **Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH**
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE

72 Inventor/es: **Rundfeldt, Chris;**
Dost, Rita;
Löscher, Wolfgang;
Tipold, Andrea;
Unverferth, Klaus y
Lankau, Hans-Joachim

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 316 808 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

Empleo de dihidroimidazolonas para el tratamiento de la epilepsia en perros.

5 La presente invención se refiere a dihidroimidazolonas substituidas, particularmente la [1-(4-clorofenil-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona (AWD 131-138) ó sales de la misma fisiológicamente aceptables, para emplear en el tratamiento de la epilepsia en perros.

10 Las crisis epilépticas son los trastornos intracraneales más comunes en los humanos y animales, en particular perros y gatos (OLIVER 1980, SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984, LÖSCHER *et al.* 1985, FREY 1989). En el perro como también en el hombre, las crisis epilépticas se han estimado con una morbilidad del 0,5-1% (Departamento de Salud, Educación, y Bienestar de US, 1977, JANZ 1979, LÖSCHER *et al.* 1985, KERÄNEN y RIEKKINGEN 1988, FORRESTER *et al.* 1989, SRENK *et al.* 1994). Se emplean diferentes sinónimos para la epilepsia pero todos describen repentinas, exageradas descargas neuronales paroxísticas transitorias, en el córtex cerebral (LÖSCHER 1993, JAGGY y STEFFEN 1995a). Se han efectuado considerables progresos en la comprensión de los mecanismos fundamentales. Se ha descrito (FENNER y HAAS, 1989) un desequilibrio entre los neurotransmisores inhibidores (BURNHAM 1989, LÖSCHER 1989) y los neurotransmisores excitadores (MCNAMARA 1988, DINGLEDINE *et al.* 1990). También los canales iónicos alterados y las funciones del receptor de los neurotransmisores parecen jugar un papel importante en la patogénesis de la epilepsia (OWENS Y KRIEGSTEIN 2001).

20 Los ataques han sido clasificados, bien sea como ataques parciales o generalizados, con actividad tónica, clónica o tónica-clónica, con o sin pérdida de la conciencia (SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984). La epilepsia se califica de idiopática cuando no puede definirse ninguna causa subyacente mediante exámenes clínicos y patológicos (CUNNINGHAM 1971, DE LAHUNTA 1983, MONTGOMERY y LEE 1983, SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984 y CHRISMAN 1991). La epilepsia sintomática está causada o bien por una lesión intracraneal o bien por un trastorno metabólico extraneural (JAGGY y STEFFEN 1995 b y c, PODELL *et al.* 1995, JAGGY y HEYNOLD 1996). En los perros, la epilepsia idiopática se diagnostica en aproximadamente el 45% de los casos de ataques epilépticos (JAGGY y STEFFEN, 1995 a y c), y en el 5,3-8,0% de todos los perros con enfermedades del sistema nervioso (SCHWARTZ-PORSCHÉ 1994, BERNARDINI y JAGGY 1998). En la mayoría de los casos caninos con epilepsia idiopática se han observado ataques generalizados (80-90%)(SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984, LÖSCHER *et al.* 1985, BRAUND 1986, CENTER 1986, JAGGY y STEFFEN, 1995 c). Sin embargo, pueden encontrarse ataques parciales (BREITSCHWERDT *et al.* 1979). La actividad de los ataques empieza corrientemente en perros con epilepsia idiopática a una edad de 1-3 años (CROFT 1965, CUNNINGHAM 1971, DE LAHUNTA 1983, FORRESTER *et al.* 1989, OLIVER y LORENZ, 1993). En algunas razas se comprobó la herencia (OLIVER 1987, CHRISMAN 1991, OLIVER y LORENZ, 1993, JAGGY y STEFFEN, 1995a).

35 En perros, sólo pueden emplearse satisfactoriamente unos pocos fármacos antiepilépticos como tratamiento de por vida, como por ejemplo el fenobarbital, la primidona y el bromuro de potasio (SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984, FREY y SCHWARTZ-PORSCHÉ 1985, FREY 1986, SCHWARTZ-PORSCHÉ y JÜRGENS 1991, LÖSCHER 1994).

40 Sin embargo, el resultado del tratamiento no es satisfactorio en todos los casos. Aproximadamente en un tercio de los casos se observa una resistencia al fármaco (SCHWARTZ-PORSCHÉ *et al.*, 1982, FREY y SCHWARTZ-PORSCHÉ 1985, LÖSCHER *et al.*, 1985, LÖSCHER y SCHWARTZ-PORSCHÉ 1986, HEYNOLD *et al.* 1997). Además, empleando el fenobarbital o respectivamente la primidona, pueden presentarse efectos secundarios tales como por ejemplo una sedación excesiva, ataxia, dar pasos convulsivos, debilidad, polifagia, polidipsia y poliuria (SCHWARTZ-PORSCHÉ *et al.* 1982 y LÖSCHER 1995). Se observa frecuentemente un aumento de enzimas hepáticas (LÖSCHER 1995). El tratamiento con bromuro de potasio puede dar por resultado, cansancio, anorexia, obstipación, gastritis y lesiones de la piel (LÖSCHER 1995).

50 Nuevos fármacos antiepilépticos como por ejemplo el gabapentin o el lamotrigine no pueden emplearse para el tratamiento de la epilepsia en perros debido a un insuficiente período de semi-vida (LÖSCHER 1994), aunque son capaces de suprimir satisfactoriamente los ataques inducidos mediante toxinas convulsivas como por ejemplo el pentilénotetrazol (PTZ) en perros. Otro ejemplo de dichos fármacos es el abecarnil (Láscher *et al.*, 1990), el cual ha demostrado que suprime los ataques inducidos por el PTZ, pero no puede emplearse en el tratamiento de la epilepsia. Los modelos animales disponibles actualmente pueden emplearse para ensayar en principio si un fármaco en cuestión puede o no puede llevar el potencial para ser un anticonvulsivo, pero sin embargo, dichos ensayos no pueden predecir la eficacia clínica del fármaco. El problema de un periodo corto de semi-vida se agrava todavía más por el hecho de que la evacuación intestinal en los perros es más rápida que en el hombre.

60 Recientemente se ha iniciado un estudio clínico para ensayar la actividad antiepiléptica de la fenitoína, uno de los más antiguos anticonvulsivos, administrado en una formulación de liberación gradual. Sin embargo, este estudio no ha tenido éxito al no dar una actividad suficiente. Este resultado era de esperar debido a la rápida evacuación intestinal en los perros, haciendo que el empleo de formulaciones de liberación gradual fuera insatisfactoria. Otro estudio clínico en perros se efectuó empleando el vigabatrin (Speciale *et al.*, 1991). Este compuesto se seleccionó debido a su mecanismo de acción. Dicho mecanismo de acción implica la irreversible inhibición de la ruta metabólica del ácido gamma-aminobutírico. Debido a la naturaleza irreversible del mecanismo, se esperó que este fármaco ejerciera su actividad independientemente de la presencia de un periodo largo de semi-vida. Se sabía que altas dosis únicas, bloqueaban

irreversiblemente la degradación metabólica del ácido gamma-aminobutírico. Sin embargo, este estudio fracasó debido a los inaceptables efectos secundarios de este fármaco en los perros.

En base a esta información, la necesidad de nuevos fármacos antiepilépticos para perros es obvia. Estos nuevos fármacos deben ser activos en el tratamiento de la epilepsia en perros que sufren de epilepsia (es decir, pacientes). Estos fármacos deben ser especialmente también activos en los perros que sufren de epilepsia pero que no pueden ser tratados con la medicación disponible. Además, estos fármacos deben tener un mejor perfil en lo que se refiere a los efectos secundarios, es decir, deben producir menos efectos secundarios después del tratamiento.

El AWD, a saber la 131-138 [1-(4-clorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona] es un nuevo fármaco con efectos anticonvulsivos y ansiolíticos (Rostock *et al.* 1998a-d; WO 97/09314). Se demostró también que dicho fármaco aumentaba el umbral de los ataques inducidos químicamente en el ensayo de ataques con pentileno-tetrazol (PTZ) intravenoso en ratones y perros. En los perros, una dosis de 20 y 40 mg/kg p.o. aumentó el umbral de los ataques en un 39 y 118% respectivamente (Bialer *et al.*, 1999). En los perros la actividad en el ensayo del umbral de ataques con PTZ permaneció estable durante el tratamiento con 5 mg/kg dos veces al día p.o. durante 4 semanas (Bialer *et al.*, Epilepsy Research (“Investigación de la Epilepsia”), vol. 43; 2001; 11-58). Sin embargo, como se ha descrito más arriba, este modelo no pronostica la actividad clínica de un fármaco en perros que sufren de epilepsia. En este ensayo del PTZ, se administraron fármacos por vía oral y en un momento definido después de la administración del fármaco, el PTZ se infundió i.v. hasta la inducción de un primer ataque como convulsiones cónicas. La dosis del PTZ necesaria para inducir dichas convulsiones, en proporción al peso corporal, se define como un umbral convulsivo. Los efectos del fármaco se evalúan comparando el umbral convulsivo en animales tratados con el fármaco, con el umbral de experimentos de control con tratamiento solamente con el vehículo. El efecto del fármaco se expresa como tanto por ciento del aumento del umbral de convulsión. Mientras que éste es un modelo que indica alguna actividad sobre los ataques, como la conducta, el PTZ no induce la epilepsia en los perros, limitando la capacidad de predicción de dichos modelos para animales enfermos. Además, debido a la estricta correlación entre la administración del fármaco del ensayo, y la infusión del PTZ, los datos no indican si el fármaco del ensayo puede producir suficientes niveles en plasma de larga duración, para proteger al animal de los ataques durante el día, si se administró no más de una a tres veces al día.

El mecanismo de acción del AWD 131-138 no ha sido totalmente explicado hasta el día de hoy. Se encontró una muy baja afinidad para el sitio de unión de la benzodiazepina, del receptor GABA_A, en una amplia pantalla del receptor. Estudios electrofisiológicos empleando diferentes complejos del receptor GABA humano clonado, indican que el AWD 131-138 actúa como un agonista parcial de baja actividad en el receptor de la benzodiazepina sin selectividad del subtipo. La máxima estimulación obtenida con el AWD 131-138 alcanzó solamente un 20% del efecto del diazepam. El flumazenil, antagonista específico del receptor, se empleó para dictaminar la contribución de la interacción del receptor de la benzodiazepina para la actividad farmacológica. La actividad anticonvulsiva del AWD 131-138 pudo ser parcialmente antagonizada, y la actividad ansiolítica fue totalmente antagonizada después de la co-administración del flumazenil. La extensión del antagonismo en el ensayo de ataque y ansiedad fue comparable al efecto del flumazenil sobre la actividad anticonvulsiva y ansiolítica del diazepam. Estos datos indican que a pesar de la baja afinidad y de la baja actividad intrínseca, la interacción del AWD 131-138 con el receptor de la benzodiazepina puede ser el principal mecanismo de la actividad farmacológica. Sin embargo, el perfil psicofarmacológico del AWD 131-138 difiere considerablemente de los agonistas conocidos de la benzodiazepina. En un estudio de discriminación de fármacos, los monos no identificaron el AWD 131-138 como similar a la benzodiazepina, lo cual hicieron con el midazolam y el diazepam. Esta falta de benzodiazepina así como de psicofarmacología, fue también substanciada en un paradigma de autoadministración en donde el AWD 131-138, a diferencia de los agonistas completos de la benzodiazepina, no substituyó la cocaína. Esta falta de benzodiazepina, así como de psicofarmacología, puede relacionarse con la actividad agonística parcial con una baja actividad intrínseca. Se descubrió también, que el AWD 131-138 tiene un débil efecto bloqueante del canal del calcio. Este mecanismo puede contribuir a la actividad anticonvulsiva (Rostock *et al.*, 1998a-d; Rundfeld *et al.* 1998; Sigel *et al.*, 1998; Yasar *et al.*, 1999).

En la publicación científica W.B. Thomas, Veterinary clinics of north America: Small animal practice” (“Clínica Veterinaria de Norteamérica: Pequeña práctica animal”), vol. 30 (1); 2000; 183-206, se describen varios regímenes anti epilépticos, de los cuales se describe un tratamiento con fenobarbital o con bromuro, como aplicable a la epilepsia idiopática de los perros. Sin embargo, se describe que el tratamiento de los perros con fenobarbital va acompañado de efectos secundarios adversos, predominantemente sedación, hiperexcitabilidad, desasosiego o ciertos efectos metabólicos. Especialmente, una terapia de combinación de fenobarbital con primidona puede conducir a lesiones hepáticas. Un tratamiento con bromuro se describe que conduce a efectos secundarios adversos, como sedación, ataxia, debilidad en las piernas, o rigidez.

En el artículo científico Rostock *et al.*, en Drugs of the future (“Fármacos del futuro”), vol. 23(3), 1998; 253-255, hay una descripción de la actividad anticonvulsiva del AWD 131-138 en ratas y ratones después de la inducción química de convulsiones clónicas y en el modelo de amígdalas benignas para la epilepsia focal, es decir, en ciertas formas de la epilepsia sintomática en estos animales modelo. En ratas y ratones puede adscribirse a esta droga, una falta de potencial sedativo.

En el estudio en el que se basa la presente inversión, la eficacia del AWD 131-138, se evaluó en una prueba clínica con perros epilépticos. Más particularmente, se trataron perros con una epilepsia idiopática recientemente diagnosticada, sin ningún pretratamiento, y perros con una epilepsia idiopática, los cuales no respondían a la medicación

ES 2 316 808 T3

antiepiléptica convencional. Además, se efectuó un tratamiento combinado con AWD 131-138 y otros fármacos epilepticos. Adicionalmente, se evaluó, el perfil de los efectos secundarios del AWD 131-138 en comparación con otros fármacos antiepilepticos. Sorprendentemente, se encontró que el AWD 131-138 tiene un gran potencial para suprimir los ataques tanto en los perros recién diagnosticados como en los perros epilepticos resistentes a los fármacos. Además, el AWD 131-138 es bien tolerado, incluso en una administración a largo plazo, y se observaron menos efectos secundarios en la comparación con los fármacos antiepilepticos tradicionales.

El efecto sorprendente del AWD 131-138 en los perros epilepticos podría interpretarse como la combinación de dos factores: por una parte, la sorprendente tolerancia del compuesto en los perros, la cual fue mucho mayor comparada con los otros fármacos empleados clínicamente, es decir, el fenobarbital, la primidona y el bromuro de potasio. Por otro lado la administración de AWD 131-138 dio como resultado niveles en plasma que fueron lo suficientemente altos incluso 12 horas después de la aplicación, como está indicado en la figura 1. Los niveles de plasma medidos dos horas después de la administración fueron mucho más altos (figura 1). Así pues, la combinación de ambos, a saber, la excepcional tolerancia, permitiendo altos niveles en plasma después de la administración, y el suficientemente alto nivel en plasma, incluso 12 horas después de la administración, puede ser considerado como la base de la actividad inesperada del compuesto en perros epilepticos, como se vio en este estudio clínico en perros.

Así pues, el objeto de la presente inversión, es el empleo de la [1-(4-clorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona] (AWD 131-138), ó una sal fisiológicamente aceptable de la misma como ingrediente activo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la epilepsia idiopática en perros.

El medicamento de la presente intención puede ser administrado por una ruta adecuada, por ejemplo, administración parenteral, oral, nasal, pulmonar, etc.. Para finalidades prácticas, sin embargo, se prefiere la administración oral.

El medicamento puede ser administrado una o varias veces al día, por ejemplo 1-5 veces por día. Una administración de 1-3 veces al día es especialmente preferida. La dosis del ingrediente activo es una dosis terapéuticamente efectiva, es decir, una dosis que es suficiente para mejorar o eliminar los síntomas epilepticos y/o las anomalías de conducta. La dosis diaria es de preferencia de 1-200 mg/kg, con más preferencia de 5-100 mg/kg. La dosis puede adaptarse a las necesidades de un paciente individual. El ingrediente activo se administra habitualmente como una composición farmacéutica que comprende el ingrediente activo y cargas farmacéuticamente aceptables, diluyentes y/o coadyuvantes.

El ingrediente activo puede también coadministrarse con por lo menos un ingrediente activo más, si se desea. El otro ingrediente activo puede ser seleccionado entre otros fármacos antiepilepticos, como por ejemplo el fenobarbital, la primidona, y el bromuro de potasio.

El medicamento de la presente inversión puede emplearse para el tratamiento de la epilepsia idiopática. Especialmente preferido es el tratamiento de la epilepsia idiopática recién diagnosticada o la epilepsia idiopática ya establecida, particularmente la epilepsia resistente a los fármacos, que no puede ser tratada con fármacos antiepilepticos convencionales.

Una sorprendente ventaja del tratamiento es un reducido riesgo de efectos secundarios de conducta indeseables, como por ejemplo, la sedación. Además, la administración del fármaco no induce la actividad de las enzimas hepáticas y así, no encubre otras enfermedades concomitantes.

La presente invención se describe con más detalle mediante las siguientes figuras y ejemplos.

1. Materiales y métodos

1.1. Perros

En el presente estudio se examinaron 111 perros con epilepsia idiopática. En un estudio prospectivo se trataron 29 perros con AWD 131-138. En 12 perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada (perros recién diagnosticados), el tratamiento inicial anticonvulsivo se empezó con AWD 131-138. En otros 17 perros con epilepsia crónica y ninguna respuesta al tratamiento convencional, se añadió AWD 131-138 (tratamiento adicional). Retrospectivamente, evaluamos 82 perros con epilepsia idiopática. 70 perros recién diagnosticados fueron tratados con los fármacos antiepilepticos ya establecidos, fenobarbital o primidona.

En los restantes 12 perros con epilepsia crónica, sin ninguna mejora después del tratamiento con estos dos fármacos, se suplementó con bromuro de potasio (tabla 1).

ES 2 316 808 T3

TABLA 1

Número de perros incluidos en el presente estudio

Tratamiento	número de perros
1.AWD 131 138	29
- perros con epilepsia idiopática, recién diagnosticados	12
- perros con epilepsia idiopática crónica, fenobarbital o primidona con adición de AWD 131-118	17
2. Terapia convencional	82
- perros con epilepsia idiopática recién diagnosticados, monoterapia con fenobarbital	44
- perros con epilepsia idiopática, recién diagnosticados, monoterapia con primidona	26
- perros con epilepsia idiopática crónica, fenobarbital o primidona con adición de bromuro de potasio	12

1.1.1. Perros: tratamiento con AWD 131-138

La primera parte de esta investigación consiste en un estudio piloto clínico para ensayo del AWD 131-138 [1-(4-cloro-fenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona]. 29 perros con un historial de trastornos con ataques fueron diagnosticados con epilepsia idiopática.

1.1.1.1. Perros recién diagnosticados

En doce de estos perros, se había recién diagnosticado la epilepsia idiopática. No fueron tratados antes de la presentación y recibieron una monoterapia con AWD 131-138 (tabla 1). Uno de estos perros no mostró, después de cuatro meses de tratamiento con AWD 131-138, ninguna mejora en la frecuencia de los ataques, y el tratamiento fue suplementado con fenobarbital (4 mg/kg de peso corporal p.o. dosis diaria).

Todos los perros habían tenido antes de la presentación, dos o más ataques epilépticos generalizados. En todos los casos, fueron observados ataques del tipo "gran mal" por los propietarios, 5 de los cuales desarrollaron ataques del tipo "en racimo". Además de los ataques generalizados en 3 perros fueron observados ataques focales (tabla 2). La frecuencia de los ataques en los 12 perros sin tratar oscilaron de ocho ataques por mes a un ataque cada ocho meses.

1.1.1.2. Perros con epilepsia crónica

Diecisiete perros con epilepsia crónica habían sido tratados con fenobarbital o primidona antes de la presentación y no respondieron a esta medicación convencional. El período de tratamiento osciló de 3 meses a 5 años (mediana de 1,5 años, media y desviación estándar $1,6 \pm 1,3$ años). Estos animales recibieron durante el estudio piloto una terapia de combinación de, o bien fenobarbital o bien primidona, combinados con AWD 131-138 (tabla 1).

Once de estos perros fueron tratados con dosis diarias de fenobarbital de 6 a 23 mg/kg de peso corporal p.o. (mediana 10,7, media y desviación estándar $12,9 \pm 6,6$ mg/kg). Se midieron las concentraciones en suero de fenobarbital y se encontró una oscilación de 19,5 a 58,9 $\mu\text{g/ml}$ (mediana 26,5, media y desviación estándar $32,0 \pm 13,6$ $\mu\text{g/ml}$; valores de referencia 14-45 $\mu\text{g/ml}$, establecidos por FARNBACH 1984).

ES 2 316 808 T3

Los restantes seis perros fueron tratados con primidona, empleando dosis diarias de 25 a 53 mg/kg de peso corporal p.o. (mediana 45,5, media y desviación estándar $42,8 \pm 8,9$ mg/kg). En estos casos la concentración de fenobarbital osciló de 23,2 a 27,4 $\mu\text{g/ml}$ (mediana 23,7, media y desviación estándar $24,8 \pm 1,8$ $\mu\text{g/ml}$).

5 En todos los casos se observaron ataques de del tipo "gran mal", 15 de los cuales desarrollaron ataques del tipo "en racimo", y 8 perros fueron presentados como supervivientes o bien con un agudo estatus epilepticus. Además de los ataques generalizados se observaron en 5 perros ataques focales y en 2 casos ataques parciales complejos (tabla 2). La frecuencia de los ataques en estos 17 perros oscilaron desde seis ataques epilépticos por mes hasta un ataque cada seis meses.

TABLA 2

Tipos de ataque en 29 perros antes del tratamiento con AWD 131-138

tipo de ataques	número de perros	
	recién diagnosticados	epilepsia crónica
ataques del tipo "gran mal"	12/12	17/17
ataques del tipo "en racimo"	5/12	15/17
status epilepticus	---	8/17
ataques focales	3/12	5/17
ataques parciales complejos	---	2/17

1.1.2. Perros: estudio retrospectivo, tratamiento convencional

En la segunda parte de este estudio, fueron analizados retrospectivamente 82 casos bien documentados con epilepsia idiopática.

45 Setenta de estos perros habían tenido una epilepsia idiopática diagnosticada recientemente, y no fueron tratados antes de la presentación. Todos los perros habían tenido dos o más ataques antes del tratamiento. Cuarenta y cuatro de estos perros fueron tratados con el fenobarbital con una dosis diaria oscilando del 4 al 13 mg/kg de peso corporal p.o. (mediana 5,0, media y desviación estándar $6,0 \pm 2,4$ mg/kg). Las concentraciones en suero oscilaron entre 4,6-33,2 $\mu\text{g/ml}$ (mediana de 17,2, media y desviación estándar $18,4 \pm 7,2$ $\mu\text{g/ml}$).

50 Veintiséis perros fueron tratados con primidona y recibieron dosis de 24 a 70 mg/kg de peso corporal p.o. (mediana 60,0, media y desviación estándar $51,0 \pm 13,4$ mg/kg). Las concentraciones en suero de fenobarbital oscilaron entre 5,9-37,5 (mediana 18,3, media y desviación estándar $19,7 \pm 10,2$ $\mu\text{g/ml}$).

55 Todos los perros tuvieron por lo menos dos o más ataques antes del tratamiento. En la mayoría de los perros (n = 61) se observaron ataques generalizados (del tipo "gran mal"). 19 perros tuvieron ataques del tipo "en racimo" en el historial de ataques y 7 perros fueron relacionados con la fase aguda del status epilepticus o post recuperación. 13 perros tuvieron ataques focales y en 3 perros fueron descritos ataques parciales complejos (tabla 3).

60 Doce perros con epilepsia crónica fueron tratados, o bien con fenobarbital, o bien con primidona, durante 3 meses a 3 años (mediana 0,5 años, media y desviación estándar $1,7 \pm 0,9$ años) antes de la presentación, y no respondieron a la medicación. Dichos perros recibieron un fármaco adicional, bromuro de potasio.

65 Ocho de estos perros fueron tratados con dosis diarias de fenobarbital, de 6 a 17 mg/kg de peso corporal, p.o., mediana 9,5, media y desviación estándar $10,0 \pm 3,2$ mg/kg), se midieron las concentraciones en suero, y oscilaron de 18,7 a 41 $\mu\text{g/ml}$ (mediana 24,6 años, media y desviación estándar $27,2 \pm 8,4$ $\mu\text{g/ml}$).

ES 2 316 808 T3

Los restantes cuatro perros fueron tratados con primidona con dosis diarias de 50 a 70 mg/kg de peso corporal, p.o., (mediana 60,0, media y desviación estándar $60,0 \pm 7,0$ mg/kg). En estos casos la concentración en suero osciló de 24,5 al 36,2 $\mu\text{g/ml}$ (mediana 30,4, media y desviación estándar $30,4 \pm 5,9$ $\mu\text{g/ml}$).

5 El bromuro de potasio se administró con una dosis diaria de 40 - 60 mg/kg de peso corporal, p.o., (mediana 41, media y desviación estándar $42,6 \pm 5,4$ mg/kg). La concentración de bromuro osciló de 0,6 a 1,4 mg/ml (mediana 0,9, media y desviación estándar $1,0 \pm 0,3$ mg/ml; margen terapéutico 1,0-2,0 mg/ml, establecido por PODELL Y FENNER 1993).

10 En todos los perros fueron observados ataques generalizados (del tipo "gran mal"). Siete perros tuvieron ataques del tipo "en racimo" en el historial de ataques, y seis perros fueron relacionados en la fase aguda del status epilepticus o post recuperación. Seis perros tuvieron ataques focales y en un perro fueron descritos ataques focales complejos (tabla 3).

15

TABLA 3

Tipos de ataques en 82 perros antes del tratamiento con fenobarbital o primidona en perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada o con epilepsia crónica (adición de bromuro de potasio)

20

tipo de ataque	número de perros	
	recién diagnosticados	epilepsia crónica
ataques "gran mal"	61/70	12/2
ataques del tipo "en racimo"	19/70	7/12
Status epilepticus	7/70	6/12
ataques focales	13/70	6/12
ataques parciales complejos	3/70	1/12

40

45 1.2. Diseño del estudio

1.2.1. Estudio piloto: tratamiento con AWD 131-138

50 El proyecto se diseñó para ser un estudio prospectivo durante un período de 7 a 9 meses. En caso de muerte, el período de observación fue más corto (ver resultados). Para cada caso fue registrado el historial de la frecuencia de los ataques, severidad y duración de los mismos, edad de aparición del primer ataque y antes de la puesta en marcha del tratamiento antiepiléptico (ver 1.1). Los ataques epilépticos fueron categorizados en base a nuestras propias observaciones y la monitorización en vídeo (tabla 2) (HEYNOOLD *et al.*, 1997, BERNARDINI y JAGGY 1998, BERENDT y GRAM 1999, THOMAS 2000).

55

60 El diagnóstico de la epilepsia idiopática se basó sobre datos físicos normales y neurológicos y exámenes especiales normales. Todos los perros tuvieron un examen físico y neurológico estandarizado (JAGGY y TIPOLD 1999). Bloodwork incluyó en todos los casos la hematología (cuenta de células rojas, blancas y diferenciales) y química de la sangre (alanina transferasa (ALT), fosfatasa alcalina (AP), glutamato deshidrogenasa (GLDH), amoníaco, glucosa, urea, creatinina, bilirrubina en suero total, colesterol, albúmina en suero, calcio, sodio y potasio. Las concentraciones en plasma de fenobarbital (ALOMED, Radolfzell) fueron analizadas por un laboratorio externo. No se realizó ningún otro examen especial en los perros, pero se incluyó un examen del fluido cerebroespinal, tomografía computada del cráneo, EEG y rayos X del tórax (tabla 4). En dos casos, se confirmó una epilepsia idiopática mediante histopatología.

65

ES 2 316 808 T3

TABLA 4

Exámenes especiales en 29 perros tratados con AWD 131-138

Exámenes especiales	número de perros	
	recién diagnosticados	epilepsia crónica
Tomografía computada del cráneo	8/12	9/17
Fluido cerebroespinal	8/12	9/17
EEG	8/12	8/17
Rayos X del tórax	6/12	6/17

El tratamiento con AWD 131-138 empezó en todos los casos con una dosis de 5 mg/kg de peso corporal p.o. dos veces por día durante una semana. En la segunda semana la dosificación se aumentó a 10 mg/kg en cada perro. Cuando todavía se observaron ataques, la dosis de AWD 131-138 se aumentó hasta 30 mg/kg de peso corporal dos veces por día (tabla 5).

TABLA 5

Dosis diaria de AWD 131-138 en mg/kg de peso corporal

Dosis diaria	Número de perros	
	epilepsia recién diagnosticada: monoterapia con AWD 131-138	epilepsia crónica: tratamiento con adición de AWD-131-138
20 mg/kg	1/12	3/17
30 mg/kg	4/12	3/17
40 mg/kg	4/12	8/17
50/mg/kg	2/12	2/17
60 mg/kg	1/12	1/17

El primer examen complementario, se efectuó tres semanas después de empezar la terapia con AWD 131-138, y continuó con exámenes a intervalos de 6 u 8 semanas, o en función de los ataques individuales ocurridos. Se efectuó un examen clínico y neurológico, incluyendo el análisis de la sangre. Durante el estudio todos los propietarios registraron en un cuaderno de notas la descripción precisa de los ataques ocurridos, incluyendo la frecuencia, duración y severidad, cambios de conducta, otra medicación y posibles efectos adversos observados. En cada uno de estos momentos se midió la concentración en plasma del AWD 131-138 y sus metabolitos.

Después de un segundo mes de tratamiento con AWD 131-138, se rellenó un cuestionario por cada propietario enfocado al desarrollo de los ataques y efectos secundarios: sedación, polifagia, poliuria y polidipsia, vómitos, diarrea, anorexia, cambio de actitud, desasosiego, masticación aumentada después de la aplicación del AWD, agresividad hacia el propietario o hacia los otros perros y anomalías al andar.

ES 2 316 808 T3

1.2.1.1. Medición de la concentración en plasma del AWD 131-138

Se efectuó un estudio farmacocinético al principio del tratamiento en 2 perros con monoterapia de AWD 131-138, y en 4 perros con una terapia de combinación de AWD 131-138 y fenobarbital o primidona. Todos los 6 perros recibieron 5 mg/kg de peso corporal, de AWD 131-138. Se extrajo sangre 3 veces cada 2 horas. Se midió la concentración en plasma del AWD 131-138 y sus metabolitos, empleando la HPLC/espectrometría de masas. El mismo método se empleó como control de conformidad, durante los exámenes complementarios. Se extrajo sangre a las dos y doce horas después de la administración oral del AWD 131-138.

1.2.2. Estudio retrospectivo

Los datos obtenidos en esta parte del estudio sirvieron como control. En todos los 82 casos con medicación convencional (ver 1.1.2.) se registró para cada caso, el historial de la frecuencia de los ataques, severidad y duración de los mismos, edad de la aparición del ataque y tratamiento antiepiléptico. Los ataques fueron categorizados de acuerdo con las observaciones de los propietarios y la monitorización por vídeo.

Todos los perros tuvieron un examen físico estandarizado y neurológico (JAGGY y TIPOLD 1999). Se efectuó el análisis de la sangre en todos los perros, incluida la hematología y el análisis químico de la sangre (ver 1. 2. 1.). Las concentraciones en suero del fenobarbital (ALOMED, Radolfzell) y del bromuro de potasio [Gesellschaft für Epilepsieforschung ("Sociedad EV para la investigación de la epilepsia"), Bielefeld] fueron analizadas mediante métodos estándar. Otros exámenes especiales incluyeron la tomografía computada del cráneo, examen del fluido cerebroespinal, EEG y rayos X del tórax (tabla 6).

TABLA 6

Exámenes especiales en 82 perros (estudio retrospectivo)

exámenes especiales	número de perros	
	recién diagnosticados	epilepsia crónica
Tomografía computada del cráneo	22/70	5/12
Fluido cerebroespinal	22/70	5/12
EEG	27/70	9/12
Rayos X del tórax	36/70	8/12

Si todos los exámenes realizados dieron resultados dentro de los límites normales, se sospechó o respectivamente se diagnosticó la epilepsia idiopática. Los propietarios de los animales domésticos fueron preguntados acerca de observaciones clínicas, resultados del tratamiento con respecto a la frecuencia de los ataques, duración y severidad antes y después del tratamiento, el cual incluyó un periodo entre 1 y 9 meses.

1.2.3. Estadísticas

Se empleó el paquete de software estadístico WinSTAT® para EXCEL® para calcular los parámetros descriptivos en cada grupo como por ejemplo, la media, el valor de la mediana y de la desviación estándar de la edad, edad de la aparición de los ataques, edad del comienzo del tratamiento, las dosis de fenobarbital o primidona incluyendo la concentración en suero. El significado de las diferencias entre la frecuencia de los ataques antes y después del tratamiento fue calculado mediante el ensayo de Wilcoxon Signed Rank para copias emparejadas, empleando el programa InStat®. El nivel del significado se escogió como P = 0,05. La comparación de los grupos de tratamiento se efectuó mediante ANOVA (3 grupos) o mediante el ensayo exacto de Fisher (dos grupos).

2. Resultados

2.1. Frecuencia de los ataques

5 2.1.1. Estudio piloto: tratamiento con AWD 131-138

2.1.1.1. Perros recién diagnosticados

10 Antes de la presentación, la frecuencia de los ataques osciló de ocho ataques por mes a un ataque cada ocho meses (mediana 1,6). Durante la monoterapia con AWD 131-138 la frecuencia de los ataques por mes, varió a partir del control completo de ataques a 9 ataques por mes (mediana 0,71) (tabla 7). En 9 de estos 12 perros se observó una reducción de los ataques. El cálculo de los valores en estos nueve perros y por lo tanto la eliminación de los que no dieron respuesta, la mediana de la frecuencia de los ataques por mes fue de 1,7 antes del tratamiento y 0,55 durante la medicación con AWD 131-138. La mejora de la frecuencia de los ataques en estos perros fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El tanto por ciento de reducción de los ataques en los que dieron respuesta, fue del 49,8% expresado como valor medio (tabla 7).

20 Un perro (8%) el cual tuvo ataques 5 veces antes del tratamiento, permaneció libre de ataques durante el período de observación de 9 meses (de acuerdo con una nueva información del propietario ahora ha permanecido libre de ataques durante 17 meses). Una reducción de la frecuencia de los ataques en más del 50%, se logró en cuatro de doce perros (33%) (tabla 7). 3 perros (25%) se consideraron como sin respuesta, los cuales se definen como aquellos perros que, o bien no mostraron ninguna disminución en la frecuencia de los ataques, o bien mostraron un aumento en la frecuencia de los ataques durante el tratamiento. Uno de estos 3 animales murió en status epilepticus 2 meses después de la primera medicación con una dosis de 30 mg/kg de AWD 131-138, y con una concentración en plasma medida, de 3997,5 ng/ml después de 2 horas de la aplicación. Un perro empeoró, pero mejoró después de la suplementación con fenobarbital.

30 La comparación del tratamiento por monoterapia de los grupos (2.2.1.-2.2.2.) no indicó ninguna diferencia significativa entre la eficacia antiepiléptica del AWD 131-138, fenobarbital o primidona, indicando así una equivalencia terapéutica.

2.1.1.2. Perros con epilepsia crónica y tratamiento complementario con AWD 131-138

35 La frecuencia de los ataques por mes varió durante un tratamiento insatisfactorio con fenobarbital o primidona, de ocho ataques por mes a uno, respectivamente cuatro ataques cada seis meses (mediana 1,9). Durante el tratamiento adicionado con AWD 131-138 la frecuencia de los ataques por mes osciló de, libre de ataques a 9 ataques (mediana 2,0) (tabla 8). En 10 de estos 17 perros se observó una reducción de los ataques. El cálculo de los valores en estos diez perros y por lo tanto la eliminación de los que no dieron respuesta, la mediana de la frecuencia de los ataques por mes fue de 2,4 antes del tratamiento, y 1,1 durante la suplementación con AWD 131-138. La mejora de la frecuencia de los ataques en estos perros fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El tanto por ciento de reducción de los ataques en los que dieron respuesta fue del 47,2% expresado como valor medio (tabla 8).

45 6 perros (35%) tuvieron una reducción de los ataques de más del 50%. Un perro (6%) estuvo completamente libre de ataques. Este perro empezó los ataques a una edad de 8 1/2 años con 1 a 4 ataques "tipo racimo" por mes. Después de 3 meses de la terapia combinada con AWD 131-138, fue desgraciadamente eutanizado debido a una leucemia aguda. Dos perros más tuvieron todavía 2 ataques al principio del tratamiento, pero estuvieron libres de ataques durante el resto de los nueve meses del período de observación. Los restantes 11 perros tuvieron una reducción de los ataques por debajo del 50% (4 perros) o fueron considerados como sin respuesta (7 perros). Nueve pacientes de este grupo, o bien murieron o fueron eutanizados en status epilepticus a petición de los propietarios. Dos de ellos fueron examinados histopatológicamente. No se detectaron lesiones extraneurales o neurales. Otro perro murió después de una intoxicación con cumarina. En estos perros el período de observación del tratamiento fue reducido a 2-8 meses.

55 2.1.2. Estudio retrospectivo, tratamiento convencional

2.1.2.1. Perros recién diagnosticados, monoterapia con fenobarbital

60 Antes del tratamiento, tuvieron lugar ataques con una frecuencia de siete por mes, hasta un ataque cada seis meses (mediana 1,6) (tabla 7). La frecuencia de los ataques por mes durante la terapia con fenobarbital osciló desde libre de ataques, hasta 10 ataques (mediana 0,59). En 32 de estos 44 perros se observó una reducción de los ataques. En el cálculo de los valores en estos 32 perros y la eliminación de los perros sin respuesta, la mediana de la frecuencia de los ataques por mes fue de 1,68 antes del tratamiento y de 0,42 durante la medicación con fenobarbital. La mejora de la frecuencia de los ataques en estos perros fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) empleando ambos cálculos. El tanto por ciento de reducción de ataques en los que dieron respuesta, fue del 72,4% expresado como valor medio (tabla 7).

Nueve (20%) de estos 44 perros estuvieron libres de ataques epilépticos durante el tratamiento. En 28 perros (64%) se observó una reducción de los ataques de más del 50%. Doce perros (27%) fueron considerados sin respuesta. 10 perros de este grupo, o bien murieron o fueron eutanizados en status epilepticus a petición de sus propietarios. 3 perros adicionales fueron eutanizados debido a otras enfermedades distintas de la epilepsia.

5

2.1.2.2. *Perros recién diagnosticados, monoterapia con primidona*

En estos 26 perros tuvieron lugar ataques con una frecuencia de diez por mes a un ataque cada cinco meses (mediana 1,75) (tabla 7). Durante el tratamiento con primidona los ataques por mes oscilaron de 0 a 12 (mediana 0,39). Sin embargo, esta reducción de los ataques no fue estadísticamente significativa. En 19 de 26 perros se observó una reducción de los ataques. En el cálculo de los valores en estos 19 perros y la eliminación de los sin respuesta, la mediana de la frecuencia de los ataques por mes fue de 2,0 antes del tratamiento y 0,29 durante la medicación con fenobarbital. La mejora de la frecuencia de los ataques en estos perros fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El tanto por ciento de reducción de los ataques en los que dieron respuesta, fue del 75,1% expresado como valor medio (tabla 7).

Cuatro perros (15%) estuvieron libres de ataques con el tratamiento con primidona. En dieciséis perros (62%) la reducción de la frecuencia de los ataques fue mayor del 50%. Siete perros (27%) fueron considerados como sin respuesta. 10 perros de este grupo o bien murieron o fueron eutanizados en status epilepticus a petición de los propietarios.

2.1.2.3. *Perros con epilepsia crónica y tratamiento adicional con bromuro de potasio*

En doce perros “sin respuesta”, la medicación con fenobarbital o primidona fue suplementada con bromuro de potasio. Tuvieron lugar ataques con una frecuencia de 13 por mes a un ataque cada dos meses (mediana 3,0). Durante la terapia de combinación, la frecuencia de los ataques varió de 11 por mes a un ataque cada ocho meses (mediana 1,9) (tabla 8), una reducción de los ataques que no fue estadísticamente significativa. En 7 de 12 perros se observó una reducción de los ataques. El cálculo de los valores en estos 7 perros y por lo tanto la eliminación de los sin respuesta, la mediana de la frecuencia de los ataques por mes fue de 3,0 antes del tratamiento y 0,8 durante el tratamiento adicional con bromuro de potasio. La mejora de la frecuencia de los ataques en estos perros fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). El tanto por ciento de reducción de los ataques en los que dieron respuesta, fue del 59,7% expresado como valor medio (tabla 8). En 5 perros (42%) la reducción de la frecuencia de los ataques fue mayor del 50%, 5 perros más fueron considerados como “sin respuesta”. 6 perros de este grupo, o bien murieron o bien fueron eutanizados en status epilepticus a petición de los propietarios.

La comparación de los grupos de tratamiento en los perros con epilepsia crónica mediante el ensayo exacto de Fisher, no indicó ninguna diferencia significativa entre la eficacia antiepiléptica de los dos programas de tratamiento adicionales, es decir, los grupos con adición a la terapia de AWD 12-281 ó bromuro de potasio.

45

(Tabla pasa a página siguiente)

50

55

60

65

Tabla 7: Efecto de la monoterapia con AWD131-138, fenobarbital o primidona en perros epilépticos

"Sin respuesta" fueron definidos aquellos perros que o bien no mostraron ninguna disminución en la frecuencia de los ataques, o bien mostraron un aumento en la frecuencia de los ataques durante el tratamiento. Las frecuencias de los ataques están expresadas como la mediana de los valores del grupo, el tanto por ciento de reducción de los ataques viene dado como la media \pm SEM (error estándar de la media). "n" es el número de perros epilépticos por grupo. Las diferencias significativas en los valores antes y durante el tratamiento están indicadas mediante un asterisco ($P < 0,05$). La comparación de los grupos de tratamiento mediante ANOVA no indicó ninguna diferencia significativa entre la eficacia antiepiléptica de los tres fármacos.

Durante	AWD 131-138			Fenobarbital			Primidona		
	n	Antes del tratamiento	Durante el tratamiento	n	Antes del tratamiento	Durante el tratamiento	n	Antes del tratamiento	Durante el tratamiento
Frecuencia de los ataques (ataques/mes)	12	1,6	0,71	44	1,6	0,59*	26	1,75	0,39
todos los perros	9	1,7	0,55*	32	1,68	0,42*	19	2,0	0,29*

ES 2 316 808 T3

TABLA 8

Perros con epilepsia crónica, terapia suplementada con AWD 131-138 ó bromuro de potasio

5 “Sin respuesta” se han definido aquellos perros que o bien no mostraron ninguna disminución en la frecuencia de los ataques, o bien mostraron un aumento en la frecuencia de los ataques durante el tratamiento. Las frecuencias de los ataques están expresadas como la mediana de los valores del grupo, el tanto por ciento de reducción de los ataques viene dado como la media \pm SEM (error estándar de la media). “n” es el número de perros epilépticos por grupo. Las diferencias significativas en los valores antes y después del tratamiento están indicadas mediante un asterisco ($P < 0,05$). La comparación de los grupos de tratamiento mediante el ensayo exacto de Fisher no indicó ninguna diferencia significativa entre la eficacia antiepiléptica de los dos fármacos.

	Fenobarbital/primidona AWD 131-131			Fenobarbital/primidona bromuro de potasio		
	n	Antes del tratamiento	Durante el tratamiento	n	Antes del tratamiento	Durante el tratamiento
Frecuencia de los ataques (ataques/mes) todos los perros	17	1,9	2,0	12	3,0	1,9
sin los "sin respuesta"	10	2,4	1,1*	7	3,0	0,8*
% de reducción de los ataques en los perros "con respuesta"	10		47,2 \pm 8,8	7		59,7 \pm 5,9
Número de perros con > 50% de reducción de ataques			6/17 (35%)			5/12 (42%)
Número de perros libres de ataques			1/17 (6%)			0/12
Número de perros "sin respuesta"			6/17 (35%)			5/12 (42%)

2.2. Duración y severidad de la actividad de los ataques

2.2.1. Estudio piloto: tratamiento con AWD 131-138

5 2.2.1.1. Perros recién diagnosticados

En este grupo de perros, la duración del ictus antes de la presentación varió de medio minuto a 10 minutos (mediana 3,0 minutos) (tabla 9). El tiempo promedio en la mayoría de los pacientes fue de 2 a 3 minutos. Durante la monoterapia con AWD 131-138, la duración del ictus, osciló también de medio minuto a 10 minutos, pero con un valor de la mediana de 2,5 minutos. En cinco casos, la duración del ictus disminuyó entre el 12 y el 50% (media 38%).

Se observó una fase post ictal con cambios de conducta, en todos los doce perros antes de la presentación y su duración osciló de 10 minutos a 24 horas. En cuatro perros, el tiempo post ictal se acortó de un 50 a un 75%.

15 Una disminución de la severidad de los ataques fue descrita subjetivamente por nueve de 12 propietarios. Antes de la presentación, todos los perros tenían ataques “gran mal” (tabla 2), que se extendieron en cinco perros a ataques “en racimo”. Durante el tratamiento con AWD 131-138, dos perros desarrollaron solamente ataques focales. Un perro no padeció nunca ataques “en racimo”, los otros 4 perros tuvieron un reducido número de ataques “en racimo” (media 45,3% de reducción).

20 2.2.1.2. Perros con epilepsia crónica y tratamiento adicional con AWD 131-138

La duración de los ataques “gran mal” en diecisiete perros durante la monoterapia convencional con fenobarbital o primidona osciló de 30 segundos a 10 minutos (mediana 2,0 minutos) (tabla 9). Después de la suplementación con AWD 131-138, la duración de los ataques disminuyó ligeramente de 30 segundos a 5 minutos con una mediana de 2,0 minutos. La duración del ictus disminuyó en 5 perros del 40 al 50%.

30 Se observó una fase post ictal con cambios de conducta en todos los perros antes de la presentación y osciló entre 30 minutos y 48 horas (media 8,5 horas). Durante el tratamiento con AWD 131-138 el margen de este tiempo fue de 10 minutos a 24 horas (media 5,5 horas), puesto que en diez perros fue acortado del 30 al 75% (media 54%).

En ocho de los diecisiete casos, los propietarios de los animales domésticos describieron subjetivamente una disminución de la severidad de los ataques. Todos los diecisiete perros tuvieron antes del tratamiento con AWD 131-138, ataques “gran mal”, que se extendieron en ataques “en racimo” en 15 perros y/o status epilepticus en 8 perros (tabla 2). Después de la aplicación adicional de AWD 131-138 en nueve perros, ataques focales reemplazaron parcialmente los ataques “gran mal”. En tres perros no ocurrieron nunca más ataques “en racimo” y el número de ataques por racimo disminuyó en 4 casos adicionales entre el 21 y el 64% (media 39,5%). Un propietario informó del empeoramiento de la severidad de los ataques e interrumpió abruptamente la aplicación del AWD 131-138 después de dos meses de tratamiento sin más efectos secundarios en el perro. En otro perro, la aplicación del AWD se redujo gradualmente a petición de los propietarios después de 4 meses de tratamiento sin complicaciones.

45 2.2.2. Estudio retrospectivo, tratamiento convencional

2.2.2.1. Perros recientemente diagnosticados, monoterapia con fenobarbital

La duración del ictus antes del tratamiento varió de 0,5 a 10 minutos (mediana 4,0 minutos) (tabla 9). El tiempo promedio en la mayoría de los casos fue de 2 al 3 minutos. Durante la aplicación del fenobarbital, la duración de los principales episodios de ataques varió también de 0,5 minutos a 10 minutos, pero con un valor de la mediana de 5,0 minutos. Solamente en 4 perros, que no habían quedado libres de ataques, tuvo lugar un acortamiento del ictus observado del 33 al 50%.

55 Una fase post ictal con cambios de conducta, se observó entre 39 perros antes del tratamiento y su duración osciló entre diez minutos y veinticuatro horas (media 3,5 horas). Durante la aplicación del fenobarbital, la fase post ictal se redujo de 5 minutos a 24 horas (media 3 horas). Este período de tiempo se acortó en 8 perros, del 30 al 65% (media 43%).

60 En 24 casos, que no evolucionaron libres de ataques, el propietario informó subjetivamente una disminución de la severidad de los ataques. Antes de la presentación, 40 perros, tuvieron ataques de “gran mal” los cuales se extendieron en diez casos en ataques “en racimo”, en cuatro perros en status epilepticus (tabla 4). Durante la medicación con fenobarbital, el propietario observó en 6 perros ataques focales en lugar de ataques “gran mal”. En 3 de cada diez perros se interrumpió el desarrollo de ataques “en racimo”. En 3 de cada 4 perros no ocurrió más el status epilepticus. En 11 perros la actividad de ataques “gran mal” permaneció invariable, o la severidad aumentó de acuerdo con el informe de los propietarios.

65

ES 2 316 808 T3

2.2.2.2. Perros recién diagnosticados, monoterapia con primidona

En estos veintiséis perros, el ictus antes de la presentación osciló de 0,5 minutos a 10 minutos (media 1,5 minutos) (tabla 9). En la mayoría de los casos el tiempo promedio fue de 2 a 3 minutos. Durante la terapia con primidona, la duración del ictus varió de 0,5 minutos a 10 minutos (media de 1,0 minutos) y disminuyó solamente en 2 perros (30%).

Se observaron signos post ictales en veintidós perros antes de la presentación y oscilaron entre 15 minutos y 48 horas (media: 5 horas). Durante la aplicación de primidona, la fase post ictal duró de 10 minutos a 48 horas (media: 4,5 horas). La duración de la fase post ictal se acortó en 5 perros, del 25 al 65% (media: 40%).

En diez de 22 casos, los cuales no evolucionaron libres de ataques, el propietario informó subjetivamente una disminución de la severidad de los ataques. Antes del tratamiento, 25 perros tuvieron ataques “gran mal”, que se extendieron en nueve casos en ataques “en racimo”, en tres perros en status epilepticus (tabla 3). Durante la aplicación de la primidona en 2 perros, el propietario observó ataques focales en lugar de ataques “gran mal”. En 5 de cada diez perros, la frecuencia de ataques “en racimo” se redujo entre el 23 y el 50% (media: 37,50). El status epilepticus no se observó más en ninguno de los 3 perros. En 2 perros, la severidad de los ataques aumentó, de acuerdo con el informe de los propietarios.

2.2.2.3. Perros con epilepsia crónica y tratamiento suplementado con bromuro de potasio

En los doce perros tratados con monoterapia con fenobarbital o primidona, la duración del ictus varió de 1,0 minutos a 13 minutos (mediana: 3,0 minutos) (tabla 9). El tiempo promedio en la mayoría de los casos fue de 1 a 3 minutos. Después de la suplementación con bromuro de potasio, la duración del ictus varió de 1,0 minutos a 10 minutos (mediana: 2,0 minutos). La duración del ictus disminuyó en 3 perros, del 40 al 50%.

Signos post ictales, fueron observados en once perros antes de la presentación, y oscilaron entre media hora y 24 horas (media: 6,0 horas). Durante la terapia de combinación con bromuro de potasio, la fase post ictal varió de 15 minutos a 24 horas (media: 5,5 horas). La duración de la fase post ictal fue acortada en dos perros (50 y 75%).

En 4 de doce casos, el propietario informó subjetivamente de una disminución de la severidad de los ataques. Antes de la terapia de combinación, todos los 12 perros tuvieron ataques de “gran mal”, los cuales derivaron en un status epilepticus en seis perros, y en siete perros en ataques “en racimo”, lo cual no ocurrió más después de la suplementación con bromuro de potasio en 6 perros. En un perro el propietario informó de un aumento de la severidad de los ataques.

TABLA 9

Duración del ictus durante la actividad de ataques “gran mal”, antes y durante diferentes métodos de tratamiento anticonvulsivo

Tratamiento	Duración antes del tratamiento	Duración durante el tratamiento
Monoterapia con AWD 131-138 (n=12)	3,0 ¹ (0,5-10) ²	2,5 ¹ (0,5-10) ²
Terapia suplementada con fenobarbital o primidona y AWD 131-138 (N = 17)	2,0 ¹ (0,5 -10) ²	2,0 ¹ (0,5-5) ²
Monoterapia con fenobarbital n=44)	4,0 ¹ (0,5-10) ²	5,0 ¹ (0,5-10) ²
Monoterapia con primidona (n=26)	1,5 ¹ (0,5-10) ²	1,0 ¹ (0,5-10) ²
Terapia suplementada con fenobarbital o primidona y bromuro de potasio (n = 12)	3,0 ¹ (1-13) ²	2,0 ¹ (1-10) ²
Leyendas de la tabla: n = número de perros; ¹ valores de la mediana y ² oscilación del tiempo, expresados en minutos.		

ES 2 316 808 T3

2.3. Concentraciones en plasma del AWD 131-138

En seis perros participantes en el estudio piloto con AWD 131-138, se efectuó un estudio farmacocinético. El AWD 131-138 se midió en muestras de plasma, dos, cuatro, y seis horas después de la aplicación. Los resultados están resumidos en la tabla 10. La dosis inicial de AWD 131-138 fue de 5 mg/kg de peso corporal, p.o., en todos los casos.

TABLA 10

Concentración del AWD 131-138 en plasma, en ng/ml

Tiempo después de la aplicación	2 horas	4 horas	6 horas
Monoterapia con AWD 131-138			
perro 1	720,0	702,7	229,5
perro 2	2579,2	1461,0	709,0
Terapia de combinación de AWD 131-138 y fenobarbital			
perro 1	23,27	bld	bld
perro 2	1019,5	173,8	19,5
Terapia de combinación de AWD 131-138 y primidona			
perro 5	1520,5	1021,5	448,1
perro 6	2392,3	2428,7	1289,0
Leyendas de la tabla: AWD 131-138: bld (límite inferior de detección): < 2 ng/ml			

2.3.1. Concentración del AWD 131-138 en plasma en perros recién diagnosticados

para controlar la conformidad del propietario, se midió la concentración del AWD 131-138 en plasma por primera vez tres semanas después del comienzo del tratamiento, 2 y 12 horas después de la aplicación. La concentración osciló en once casos 2 horas después de la aplicación oral entre 53,28 y 8619,4 ng/ml (mediana 2585,0, media y desviación estándar $3356,3 \pm 3290,3$ ng/ml) (figuras 1 y 2). La dosis de AWD 131-138 varió entre 10 mg/kg de peso corporal en ocho perros, 15 mg/kg de peso corporal en dos perros y 20 mg/kg de peso corporal dos veces al día en un perro. Las concentraciones en plasma en este momento, 12 horas después de la aplicación oscilaron en todos los doce perros entre 5,4 y 1139,2 ng/ml (mediana 218,1, media y desviación estándar $377,5 \pm 406,0$ ng/ml) (figura 1). Además se efectuaron exámenes de control en diferentes momentos en cada perro. Las concentraciones en plasma variaron entre 53,28 y 10.737,41 ng/ml dos horas después de la aplicación oral (figuras 1 y 3). No hubo ninguna correlación entre la concentración en plasma y la frecuencia de los ataques (figura 2 y 3).

2.3.2. Concentración en plasma del AWD 131-138 en perros con epilepsia crónica

La concentración en plasma de los diecisiete perros con epilepsia crónica y tratamiento suplementado, osciló entre 279,6 y 10613,7 ng/ml (mediana: 2992,4, media y desviación estándar: $3896,1 \pm 3339,2$ ng/ml) después de 2 horas de aplicación (figura 2). La dosis del AWD 131-138 varió entre 10 mg/kg de peso corporal en quince perros y 15 mg/kg de peso corporal en dos perros dos veces por día. La concentración en plasma después de 12 horas de aplicación osciló entre 7,57 y 5873,04 ng/ml (mediana: 179,3, media: 644,0). Se efectuaron también otros exámenes de control en este

ES 2 316 808 T3

grupo en diferentes momentos. Las concentraciones en plasma variaron entre 156,46 y 26710,58 ng/ml dos horas después de la aplicación oral (figura 1). Sin embargo, el margen terapéutico del AWD 131-138 no es conocido hasta este momento. No hubo ninguna correlación entre la concentración en plasma y la frecuencia de los ataques (figuras 2 y 3).

5

2.4.1. Evaluación del cuestionario: aplicación del AWD 131-138 en 12 perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada

El tratamiento de perros con AWD 131-138 fue excepcionalmente bien tolerado. Los perros permanecieron activos, no tuvo lugar ninguna sedación. Efectivamente, se informó que los perros, estaban incluso más vivaces y abiertos. Este ligero cambio en la conducta se notó especialmente en perros conocidos por mostrar una conducta inquieta. El principal efecto secundario observado en los doce perros tratados con AWD 131-138 por los propietarios fue una polifagia que ocurrió en 7 casos (58%) en 4 perros solamente al principio del estudio. No se observaron más efectos laterales.

10
15

2.4.2. Evaluación del cuestionario: AWD 131-138 aplicación en 17 perros con epilepsia crónica

También en estos perros, el tratamiento con AWD 131-138 fue muy bien tolerado. El principal efecto secundario observado por el propietario de los diecisiete perros tratados con fármacos antiepilépticos convencionales suplementados con AWD 131-138 fue la polifagia, lo cual ocurrió en 10 casos (59%) en 7 perros, sólo al principio del estudio. Dos perros con tratamiento combinado con fenobarbital y altos niveles de concentraciones en suero de fenobarbital (56,6-528,9 µg/ml) mostraron ataxia en las patas traseras y apatía 2-4 horas después de la aplicación de AWD 131-138 con dosis de 40 mg/kg de peso corporal, de AWD 131-138, por día y concentraciones en plasma de 5563,26 a 10858,45 ng/ml después de 2 horas de aplicación. En uno de estos perros se observó un aumento de masticación después de la aplicación de AWD. No se observaron más efectos secundarios.

20
25

2.4.3. Seguimiento: aplicación de AWD 131-138 en 12 perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada

Durante los exámenes regulares de seguimiento, los exámenes clínicos y neurológicos permanecieron normales. Un perro recibió del veterinario en cuestión, enrofloxazina debido a una infección intestinal, y los ataques empezaron después de 24 horas. Después de eliminar este medicamento no se observaron más ataques. No se encontró ninguna anomalía en la hematología (cuenta de células rojas, blancas y células diferenciales, y química de la sangre).

30
35

2.4.4. Seguimiento: aplicación de AWD 131-138 en 17 perros con epilepsia crónica

Durante los exámenes regulares de seguimiento, los exámenes clínicos y neurológicos, permanecieron normales en 15 perros. En dos de los perros con tratamiento combinado con fenobarbital, la ataxia ya observada por los propietarios pudo confirmarse. Los dos perros tuvieron ligeros déficits propioceptivos en las 4 piernas, pero solamente 2-4 horas después de la aplicación del AWD 131-138. Después de este tiempo, los perros fueron clínicamente normales. Un perro recibió penicilina-estreptomina debido a una infección pulmonar por el veterinario en cuestión y se volvieron apáticos después de la medicación. Al eliminar esta medicación adicional, tuvo lugar una súbita mejora.

40
45

No se encontraron anomalías en la hematología (cuenta de células rojas, blancas y diferenciales). El análisis químico de la sangre reveló anomalías ya al principio del estudio y durante el tratamiento suplementario. En 6 perros tuvo lugar una elevación de la AP, de la ALT en 1 perro y de la GLDH en 3 perros. Todos los otros parámetros examinados permanecieron en el margen normal.

50

3. Discusión

El AWD 131-138, un nuevo fármaco antiepiléptico y ansiolítico, fue evaluado en este estudio clínico piloto en 55 perros con una epilepsia recién diagnosticada o idiopática crónica, para ensayar la efectividad anticonvulsiva de esta sustancia. De forma similar a la epilepsia humana, los animales pueden ser seleccionados en perros con ataques fármaco resistentes y perros con ataques fármaco sensibles (LÖSCHER, 1997).

En el presente estudio, los datos obtenidos a partir de los perros tratados con AWD 131-138, fueron comparados 60 con los resultados a partir de perros con medicación anti epiléptica convencional. Para participar en el estudio, todos los perros debían cumplir dos criterios principales: un examen clínico normal y neurológico, ninguna anomalía en los exámenes especiales y dos o más ataques antes del principio del tratamiento. En los perros con epilepsia crónica las concentraciones en suero de fenobarbital tenían que estar en el margen terapéutico. Para lograr un amplio margen de perros epilépticos, los animales no fueron seleccionados a causa de su raza, edad, tipo de los ataques y frecuencia 65 de los ataques. Por lo tanto estuvieron incluidas diferentes razas y perros de razas mezcladas. Sin embargo, los perros de razas grandes como por ejemplo, los German Shepherd o Retrievers estuvieron super representados, reflejando el hecho ya bien conocido de que los perros de raza grande (> 15 g) están más significativamente afectados con la epilepsia idiopática que los perros de raza pequeña (PODELL *et al.*, 1995).

La mayor parte de los perros incluidos en todas las partes del estudio -en el tratamiento con AWD 131-138 así como también en la evaluación retrospectiva de la medicación convencional- los ataques ocurrieron por primera vez entre el primer y tercer año de vida. Varios autores describen que la epilepsia idiopática empieza la mayor parte de las veces en este periodo (OLIVER 1987, OLIVER y LORENZ 1993, CHRISMAN 1991, DE LAHUNTA 1983, MARTINEK *et al.*, 1970, CROFT 1965 y 1971, CENTER 1986, CUNNINGHAM 1971, SCHWARTZ-PORSCHÉ 1984 y FORRESTER *et al.*, 1989). En el presente estudio, una parte de los perros empezó los ataques con una edad más joven o más vieja de uno a tres años. En casi todos los grupos, un perro viejo entró en el estudio con el diagnóstico clínico de epilepsia idiopática y exámenes clínicos y especiales normales. Aunque el diagnóstico podía ser cuestionable a causa de la elevada edad, estos perros cumplieron los criterios para este estudio y añadieron información a los amplios aspectos de un estudio clínico piloto.

Para recibir información acerca de la dosis ideal de AWD 131-138 en la epilepsia idiopática canina ocurrida por vía natural, todos los perros empezaron con 5 mg/kg de peso corporal p.o. dos veces al día durante una semana. Esta dosis se dobló en cada perro después de la segunda semana. En los animales que no respondieron, la dosis se aumentó hasta los 30 mg/kg de peso corporal p.o. dos veces al día. En casos aislados, con un rápido aumento de la dosis no se observó ningún efecto secundario y parece posible que altas dosis puedan emplearse al principio del tratamiento. Diferentes dosis modificadas de acuerdo con la respuesta al tratamiento fueron también empleadas en el grupo con medicación convencional. Por lo tanto los diferentes programas de tratamiento son comparables.

Las concentraciones de plasma del AWD 131-138 fueron medidas para dos finalidades: para controlar la farmacocinética después de una dosis única de aplicación oral de la nueva sustancia en perros afectados y controlar la conformidad de los propietarios durante el estudio. La farmacocinética reveló una alta variación de las concentraciones en plasma, probablemente causada por la diferente distribución de la sustancia en diferentes tejidos. La misma variabilidad en las concentraciones en plasma se encontró después de 3 semanas de la medicación con AWD 131-138 en diferentes momentos de tiempo. Un hallazgo interesante fue que en los perros con epilepsia crónica y tratamiento con fenobarbital suplementado con AWD 131-138, se encontraron los valores más bajos. Se efectuaron más estudios para evaluar si tiene lugar una cierta interacción entre el fenobarbital y el AWD 131-138, la cual conduce a concentraciones en plasma, bajas. La concentración en plasma no fue correlativa con la frecuencia de los ataques. Sin embargo, en perros con un ligero aumento de la dosis de AWD 131-138, tuvo lugar una reducción de los ataques solamente con un ligero retraso. Puesto que no se observaron efectos secundarios, pudo introducirse un programa de tratamiento más agresivo en futuros experimentos y potenciar la efectividad en perros con epilepsia idiopática.

La reducción de la frecuencia de los ataques empleando el AWD 131-138 en perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada, fue comparable con la reducción en los perros tratados o bien con fenobarbital o bien con primidona. Los resultados de la presente evaluación retrospectiva del tratamiento de fenobarbital y primidona, están en conformidad con los estudios previamente descritos (SCHWARTZ-PORSCHÉ *et al.*, 1985). Los tres grupos de tratamiento no indicaron ninguna diferencia significativa entre la eficacia antiepiléptica de los tres fármacos. El cálculo de la reducción de la frecuencia de los ataques excluyendo los perros "sin respuesta", reveló en todos los tres grupos, diferencias significativas de los valores antes y durante el tratamiento. En el grupo tratado con AWD 131-138 el porcentaje total de reducción de los ataques fue algo menor que en los otros grupos. Sin embargo el número de pacientes en el estudio piloto prospectivo fue menor que en el grupo retrospectivo y pudo influenciar el resultado. Mayores dosis de AWD 131-138 al principio de un programa de tratamiento pudo mejorar además la efectividad anticonvulsiva de la nueva sustancia.

En perros con epilepsia crónica y terapia suplementada, o bien AWD 131-138, o bien con bromuro de potasio, la suplementación con otra sustancia tuvo un efecto sobre la frecuencia de los ataques. Los perros mejoraron en un grado similar en ambos grupos. El cálculo de la reducción de la frecuencia de los ataques excluyendo los perros "sin respuesta", reveló en ambos grupos diferencias significativas en los valores antes y durante el tratamiento. El porcentaje de perros "sin respuesta" fue más alto que en los perros con epilepsia recién diagnosticada, como era de esperar.

Además de la reducción de la frecuencia de los ataques, se evaluó la duración de los ataques y la severidad antes y durante el tratamiento. Durante la medicación con AWD 131-138, el ictus de los ataques "gran mal" se acortó en más de 1/3 de los casos. Este fenómeno no ocurrió de forma extraña en los perros tratados con fenobarbital (aproximadamente 1/10 de los perros). Por el contrario, en los perros tratados con fenobarbital, los valores de la mediana de la duración del ictus aumentaron durante la medicación. Sin embargo la fase post ictal se acortó en todos los grupos examinados. Además del acortamiento del ictus y de la fase post ictal, la severidad de los ataques aislados se redujo durante el tratamiento con AWD 131-138. Los ataques "gran mal" cambiaron a ataques focales, la aparición de "ataques en racimo", desapareció o bien se redujo el número de ataques aislados por "racimo". La mayoría de los propietarios describió subjetivamente una disminución de la severidad de los ataques.

Las diferencias más obvias entre el tratamiento con AWD 131-138 y la medicación convencional, tuvieron lugar al evaluar los efectos secundarios. Sólo en raras ocasiones, se informó de efectos secundarios no deseados, los cuales incluyeron la polifagia al comienzo del tratamiento y ataxia en dos perros con tratamiento combinado con fenobarbital y altas concentraciones en suero de fenobarbital. Los severos efectos secundarios descritos en el tratamiento con fenobarbital, tales como la polidipsia, polifagia, sedación excesiva, anormalidades en el modo de andar (BUNCH *et al.*, 1982, SCHWARTZ-PORSCHÉ *et al.*, 1985), no tuvieron lugar. La ataxia en los perros mencionados fue probablemente causada por la combinación con el fenobarbital. Los efectos secundarios del tratamiento con fenobarbital fueron

ES 2 316 808 T3

algunas veces no aceptadas por los propietarios y la terapia se interrumpió. Empleando el AWD 131-138, la conformidad de los propietarios fue extremadamente buena, especialmente debido a que los perros nunca mostraron ninguna sedación. Todavía más, especialmente en los perros conocidos por su conducta inquieta, ésta fue mejorada. Esto puede ser tomado como un indicador de la actividad ansiolítica. La aplicación crónica de la primidona y el fenobarbital puede conducir a una considerable elevación de las enzimas hepáticas (ALT, GLDH y AP) (SCHWARTZ-PORSCHKE *et al.*, 1985), lo cual no se observó en los perros tratados con monoterapia de AWD 131-138, y se considera que es una gran ventaja para la interpretación de los resultados del laboratorio en enfermedades distintas de la epilepsia, que pueden tener lugar.

10 En resumen, el presente estudio piloto muestra por primera vez, que la sustancia AWD 131-138 tiene un potente efecto anticonvulsivo en los perros con epilepsia idiopática. El AWD 131-138 es equipotente con los fármacos antiepilépticos convencionales tales como el fenobarbital o la primidona. La administración crónica es bien tolerada y se han observado menos efectos secundarios en comparación con los fármacos antiepilépticos tradicionales. Estos resultados positivos justifican el desarrollo del AWD 131-138 como fármaco antiepiléptico efectivo para el tratamiento de los perros. Inesperadamente, la muy baja afinidad y la parcial actividad agonista al receptor de la benzodiazepina, se tradujo en una actividad anticonvulsiva con un reducido potencial de efectos secundarios en los pacientes. Además, los estudios prospectivos con un alto número de animales tratados y con altas dosis de AWD 131-138 al principio del tratamiento, darán probablemente por resultado, una incluso mejor eficacia clínica sin efectos secundarios concomitantes que limiten la dosis. Todavía más, las observaciones que forman el perfil clínico indican que el fármaco puede tener además propiedades ansiolíticas en los perros.

25

30

35

40

45

50

55

60

65

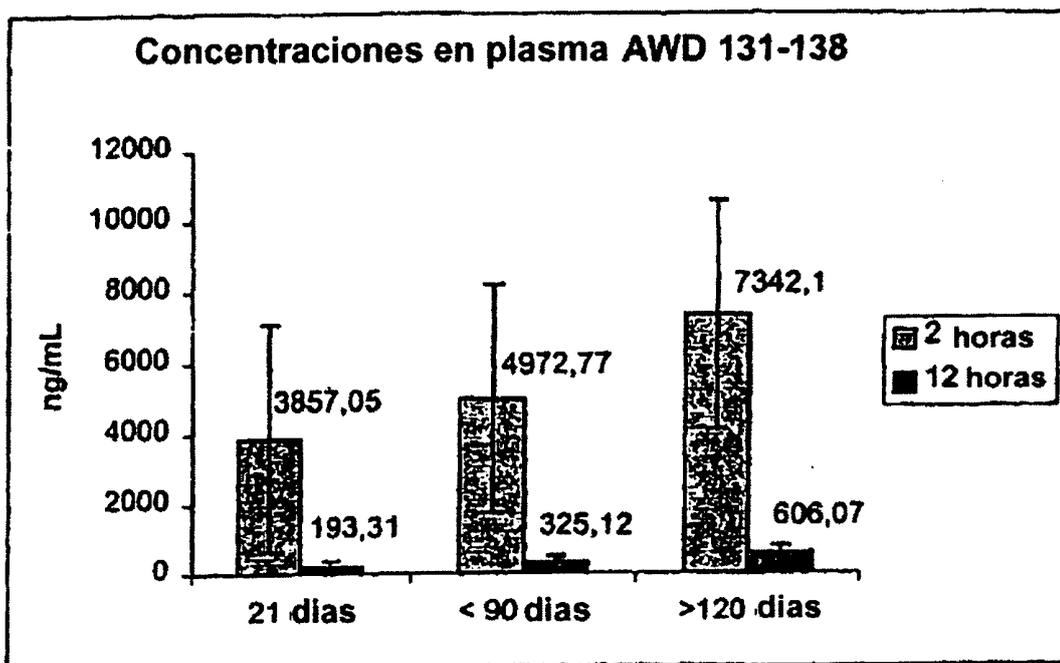
ES 2 316 808 T3

REIVINDICACIONES

- 5 1. Empleo de la 1-(4-clorofenil)-4-(4-morfolinil)-2,5-dihidro-1H-imidazol-2-ona, ó una sal fisiológicamente aceptable de la misma como ingrediente activo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la epilepsia idiopática en perros.
2. Empleo de la reivindicación 1, en donde el medicamento es para administración oral.
- 10 3. Empleo de la reivindicación 1, en donde el medicamento se administra 1-5 veces al día.
4. Empleo de la reivindicación 1, en donde la dosis diaria del ingrediente activo es de 1 a 200 mg/kg.
- 15 5. Empleo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde el ingrediente activo se coadministra por lo menos con otro ingrediente activo.
- 20 6. Empleo de la reivindicación 5, en donde el otro ingrediente activo se selecciona entre el fenobarbital, la primidona, y el bromuro de potasio.
7. Empleo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para el tratamiento de la epilepsia idiopática recién diagnosticada.
- 25 8. Empleo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para el tratamiento de la epilepsia idiopática resistente a los fármacos.
- 30
- 35
- 40
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

ES 2 316 808 T3

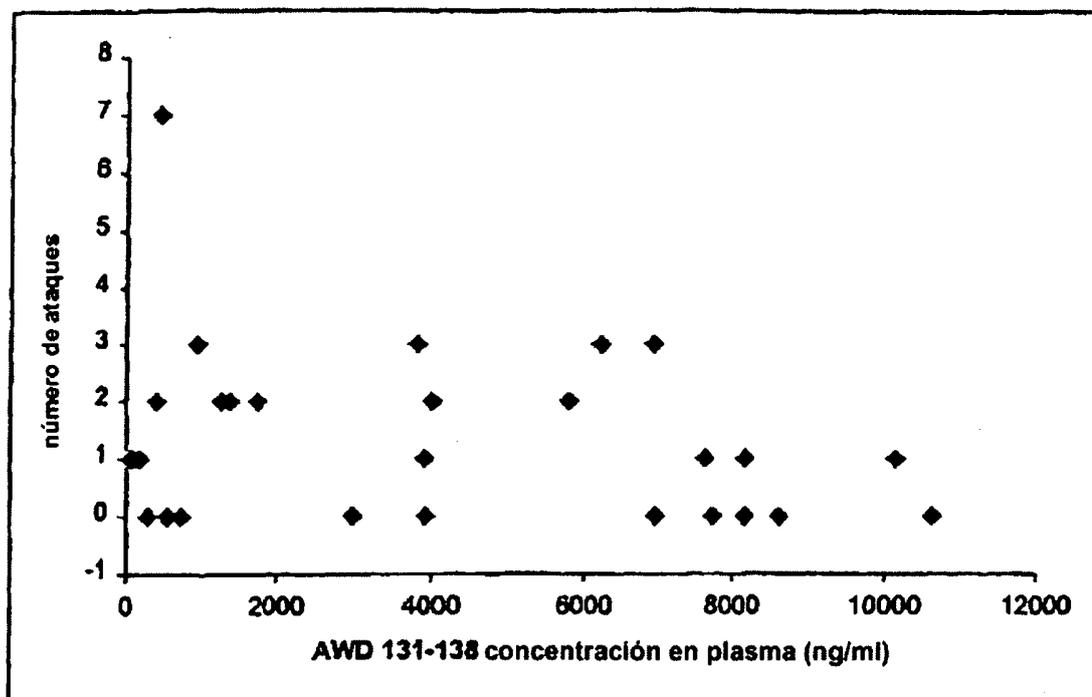
La figura 1 muestra la concentración en plasma del AWD 131-138, medida a las 2 y 12 horas después de la aplicación oral de 20-30 mg/kg de AWD 131-138 (monoterapia)



Las concentraciones en plasma están expresadas como valores de la mediana y la desviación estándar. Las mediciones tuvieron lugar 21 días después de principiar el tratamiento y en diferentes momentos de tiempo durante el período de tratamiento (entre 30 y 90 días (< 90 días) y > 120 días).

ES 2 316 808 T3

La figura 2 muestra la concentración en plasma del AWD 131-138 (ng/ml) y un número de ataques durante el primer mes de tratamiento (2 horas después de la aplicación) en perros con epilepsia recién diagnosticada y crónica.



ES 2 316 808 T3

La figura 3 muestra la concentración en plasma del AWD 131-138 (ng/ml), 2 horas después de la aplicación), y el número de ataques durante los exámenes de seguimiento en perros con epilepsia idiopática recién diagnosticada

