

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 989 458**

51 Int. Cl.:

A61K 31/5415 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.07.2019 PCT/EP2019/069428**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2020 WO20020751**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.07.2019 E 19752425 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2024 EP 3826639**

54 Título: **Dosis optimizada de diaminofenotiazinas en poblaciones**

30 Prioridad:

26.07.2018 GB 201812193

01.07.2019 GB 201909458

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.11.2024

73 Titular/es:

**WISTA LABORATORIES LTD. (100.0%)
25 Bukit Batok Crescent The Elitist 06-13
Singapore 658066, SG**

72 Inventor/es:

**WISCHIK, CLAUDE MICHEL;
SCHELTER, BJÖRN OLAF y
SHIELLS, HELEN CHRISTINE**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 989 458 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

Dosis optimizada de diaminofenotiazinas en poblaciones

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere en general a diaminofenotiazinas para su uso en el tratamiento o profilaxis de trastornos neurodegenerativos utilizando regímenes de dosificación optimizados, particularmente dentro de poblaciones de individuos que tienen diferentes respuestas farmacocinéticas.

10

Antecedentes de la técnica

Se cree que la agregación aberrante de proteínas es una causa próxima de numerosos estados patológicos, que pueden manifestarse como neurodegeneración, demencia clínica y otros síntomas patológicos.

15

En general, la agregación aberrante de proteínas es la que surge de una interacción de polimerización conformacional inducida, es decir, uno en el que un cambio conformacional de la proteína, o en un fragmento de la misma, da lugar a la unión moldeada y la agregación de otras moléculas de proteína (precursoras) de manera autopropagante.

20

Una vez iniciada la nucleación, puede producirse una cascada de agregación que implica la polimerización conformacional inducida de otras moléculas de proteína, lo que conduce a la formación de fragmentos de productos tóxicos en agregados que son sustancialmente resistentes a una proteólisis adicional.

25

Por ejemplo, ciertas condiciones de demencia pueden caracterizarse por una acumulación progresiva de depósitos intracelulares y/o extracelulares de estructuras proteicas tales como placas de β -amiloide y ovillos neurofibrilares (NFT) en los cerebros de los pacientes afectados. La aparición de estas lesiones se correlaciona en gran medida con la degeneración neurofibrilar patológica y la atrofia cerebral, así como con deterioro cognitivo (véase, por ejemplo, Mukaetova-Ladinska *et al.*, 2000).

30

Los **tratamientos aprobados actuales para la enfermedad de Alzheimer** incluyen los inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChEI) y el antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato memantina. Estos son sintomáticos y no abordan la patología de la enfermedad subyacente. Las terapias dirigidas a la patología amiloide hasta ahora han resultado infructuosas en ensayos clínicos en última etapa (Geerts *et al.*, 2013; Mullane y Williams, 2013). Según una reciente Comisión de Neurología de Lancet, **"un tratamiento eficaz para la EA es quizás la mayor necesidad médica no cubierta a la que se enfrenta la medicina moderna"**, (Winblad *et al.*, 2016), sobre todo porque el coste económico global de la demencia se estima en 818 mil millones de \$ o el 0,65 % del producto interno bruto global (**Alzheimer's Disease International**, 2015).

35

40

Los NFT (la patología descubierta por Alois Alzheimer, (Alzheimer, 1907)) están formados por filamentos helicoidales emparejados (PHF), compuestos predominantemente por un fragmento de dominio repetido de 12 kDa de la proteína tau asociada a microtúbulos (Wischik *et al.*, 1985; Wischik *et al.*, 1988a,b). Numerosos estudios han confirmado una relación cuantitativa entre la propagación de la patología del ovillo neurofibrilar y la cantidad de tau agregada con la extensión de la demencia clínica y los déficits de **imágenes moleculares funcionales en la enfermedad de Alzheimer** (Arriagada *et al.*, 1992; Brier *et al.*, 2016; Giannakopoulos *et al.*, 2003; Josephs *et al.*, 2003; Maruyama *et al.*, 2013). Dado que la agregación patológica de la proteína tau comienza al menos 20 años antes de cualquiera de las manifestaciones clínicas (Braak y del Tredici, 2013), abordar esta patología ofrece un enfoque racional tanto para el tratamiento como para la prevención de la EA y los trastornos de agregación de tau relacionados (Huang y Mucke, 2012; Wischik *et al.*, 2014; Wischik *et al.*, 2010).

45

50

El fragmento tau originalmente identificado como un componente estructural intrínseco del núcleo de PHF tiene propiedades similares a las de los priones *in vitro* en que captura la proteína tau normal con una afinidad muy alta (Lai *et al.*, 2016) y lo convierte en una réplica proteolíticamente estable de sí mismo (Wischik *et al.*, 1996; Harrington *et al.*, 2015) en un proceso que es autopropagante y autocatalítico. La fosforilación de tau inhibe su agregación (Lai *et al.*, 2016) y es poco probable que impulse la cascada (Mukaetova-Ladinska *et al.*, 2000; Schneider *et al.*, 1999; Wischik *et al.*, 1995). La inhibición directa de la agregación de tau representa un punto plausible para la intervención terapéutica.

55

60

El metiltioninio (MT) actúa como inhibidor de la agregación de tau (TAI) *in vitro* (Wischik *et al.*, 1996; Harrington *et al.*, 2015) **disuelve los PHF del tejido cerebral de la enfermedad de Alzheimer**, (Wischik *et al.*, 1996) y reduce la patología de tau y los déficits conductuales asociados en modelos de tau de ratón transgénico en concentraciones cerebrales consistentes con la dosificación oral humana (Melis *et al.*, 2015; Baddeley *et al.*, 2015).

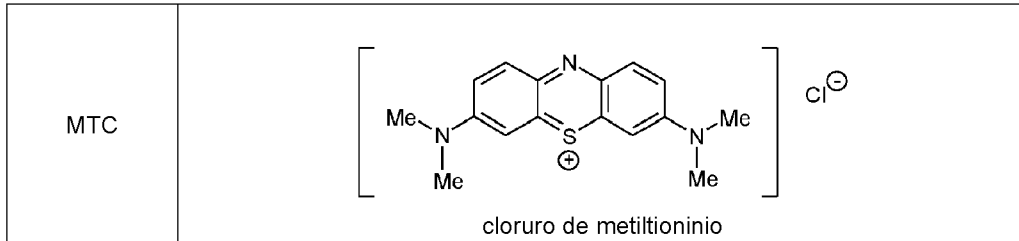
65

También se ha demostrado que MT inhibe la agregación de otras proteínas asociadas a enfermedades (véase, por ejemplo, el documento WO2007/110629 y referencias allí incluidas).

El MT es una molécula redox y, dependiendo de las condiciones ambientales (por ejemplo, pH, oxígeno, agentes

reductores), existe en equilibrio entre una forma reducida [leucometiltioninio (LMT)] y una oxidada (MT⁺).

5 El documento WO96/30766 describe dichos compuestos que contienen MT para su uso en el tratamiento y profilaxis de diversas enfermedades, incluyendo EA y enfermedad de cuerpos de Lewy. Un compuesto ilustrativo fue el cloruro de metiltioninio ("MTC", por sus siglas en inglés) comúnmente conocido como azul de metileno, que es la sal de cloruro de la forma oxidada de metiltioninio (MT), es decir, MT⁺.



10 El documento WO96/30766 describe, en el caso de administración oral, una dosificación diaria de aproximadamente 50 mg a aproximadamente 700 mg, preferentemente de aproximadamente 150 mg a aproximadamente 300 mg, dividida preferentemente en 1-3 dosis unitarias.

15 El documento WO2007/110630 divulga ciertos compuestos de diaminofenotiazina específicos relacionados con MTC, incluyendo (llamado) ETC, DEMTC, DMETC, DEETC, MTZ, ETZ, MTI, MTILHI, ETI, ETLHI, MTN y ETN, que son útiles como fármacos, por ejemplo, en el tratamiento de la **enfermedad de Alzheimer** y otras enfermedades tales como la demencia frontotemporal (DFT).

20 El documento WO2007/110630 describe unidades de dosificación que comprenden de 20 a 300 mg de compuestos de 3,7-diaminofenotiazina (DAPTZ) descritos en el mismo, por ejemplo, de 30 a 200 mg, por ejemplo 30 mg, 60 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg. Se sugiere una dosis adecuada del compuesto DAPTZ en el intervalo de aproximadamente **100 ng a aproximadamente 25 mg (más típicamente de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg)** por kilogramo de peso corporal del sujeto al día, por ejemplo 100 mg, 3 veces al día, 150 mg, 2 veces al día, 200 mg, 2 veces al día. También se trata una dosis de 50 mg 3 o 4 veces al día.

25 Un modelo farmacocinético preliminar para el azul de metileno, basado en estudios de conjuntos de datos de excreción urinaria en humanos, perros y ratas, fue propuesto por DiSanto y Wagner, J Pharm Sci 1972, 61:1086-1090 y 1972, 61:1090-1094 y Moody *et al.*, Biol Psych 1989, 26: 847-858.

30 Pedro *et al.* (2000) Eur J Clin Pharmacol 56: 247-250 proporcionaron un modelo que integraba datos de nivel en sangre, lo que contradecía los datos anteriores de DiSanto y Wagner con respecto a la semivida de eliminación terminal.

35 May *et al.* (Am J Physiol Cell Physiol, 2004, Vol. 286, pp. C1390-C1398) mostraron que los eritrocitos humanos reducen y captan MTC secuencialmente, es decir, que las células no captan el MTC en sí mismo, sino que es la forma reducida de MT que cruza la membrana celular. También demostraron que la tasa de absorción depende de la enzima; y que tanto la forma oxidada de MT como la reducida se concentran en las células (la forma reducida de MT se reequilibra una vez dentro de la célula para formar MT oxidado).

40 Según estas y otras divulgaciones, se cree que el MTC administrado por vía oral y fármacos similares se absorben en el intestino y entran en el torrente sanguíneo, mientras el fármaco no absorbido se filtra por el tubo digestivo, al intestino distal. Un efecto secundario no deseado importante es el efecto del fármaco no absorbido en el intestino distal, por ejemplo, sensibilización del intestino distal y/o efectos antimicrobianos del fármaco no absorbido en la flora del intestino distal, ambos producen diarrea.

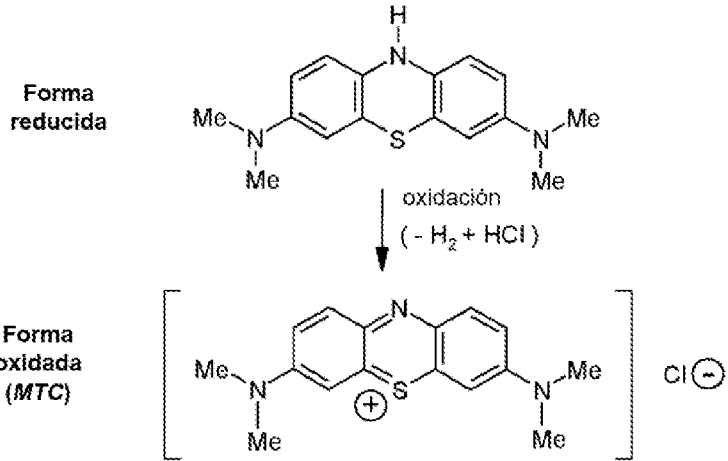
45 El MTC se probó clínicamente en un estudio de fase 2 (Wischik *et al.*, 2015). Aunque la dosis mínima segura y eficaz se identificó como 138 mg/día, una dosis más alta de 218 mg/día tuvo una eficacia limitada debido a las limitaciones de absorción, muy probablemente debido a la necesidad de reducir el MT⁺ a la forma leuco-MT (LMT) para permitir una absorción eficiente por difusión pasiva.

50 El documento WO2009/044127 desveló los resultados de un ensayo clínico de fase 2, lo que indicó que MTC tenía dos acciones farmacológicas sistémicas: efectos cognitivos y efectos hematológicos, pero que estas acciones eran separables. Específicamente, los efectos cognitivos no mostraron una relación dosis-respuesta monotónica, mientras que los efectos hematológicos sí. Se propuso que dos especies distintas eran responsables de los dos tipos de actividad farmacológica: el MTC se absorbe como la forma LMT no cargada que es responsable de la actividad cognitiva beneficiosa y el MTC se absorbe como una especie dimérica oxidada que es responsable de la oxidación de la hemoglobina. El documento WO2009/044127 describió cómo se podrían usar las formas de dosificación para maximizar la biodisponibilidad de las especies terapéuticamente activas (cognitivamente efectivas), ya sea que se

dosifiquen con compuestos oxidados o leuco-DAPTZ.

Dado que es la forma reducida del MT la que es absorbida por las células, se ha propuesto administrar una forma reducida a los pacientes. Esto también puede reducir la dependencia de la etapa limitante de la velocidad de la reducción enzimática.

El MTC, una sal de fenotiazin-5-io, puede considerarse una "forma oxidada" en relación con el correspondiente compuesto de 10H-fenotiazina, N,N,N',N'-tetrametil-10H-fenotiazina-3,7-diamina, que puede considerarse una "forma reducida":



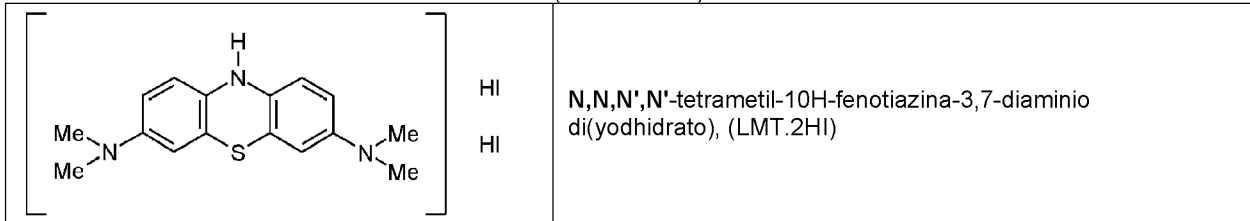
Se sabe que la "forma reducida" (o "forma leuco") es inestable y puede oxidarse fácil y rápidamente para dar la forma "oxidada" correspondiente.

El documento WO 02/055720 desvela el uso de formas reducidas de ciertas diaminofenotiazinas para el tratamiento de enfermedades de agregación de proteínas, principalmente taupatías. Según la actividad *in vitro* para las formas reducidas de diaminofenotiazinas en las mismas, una dosis diaria sugerida fue de 3,2-3,5 mg/kg y también se han descrito dosis de 20 mg t.s.d., 50 mg t.s.d. o 100 mg t.s.d., combinada con una proporción de 2x mg de ácido ascórbico de tal manera que se logra una reducción de más del 90 % antes de la ingestión.

El documento WO2007/110627 divulgó determinadas sales de 3,7-diamino-10H-fenotiazinio, eficaces como fármacos o profármacos para el **tratamiento de enfermedades, incluyendo la enfermedad de Alzheimer** y otras enfermedades tales como la demencia frontotemporal (DFT). Estos compuestos también están en forma "reducida" o "leuco" cuando se consideran con respecto al MTC. Estos compuestos de leucometiltioninio se denominaron sales "LMTX" e incluían las siguientes sales:

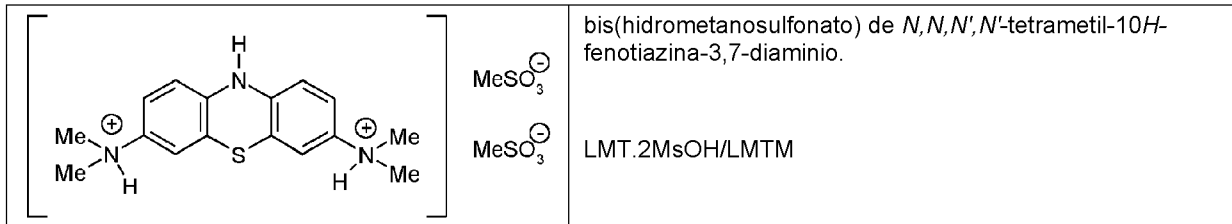
	<p>HCl HCl</p>	<p>N,N,N',N'-tetrametil-10H-fenotiazina-3,7-diaminio di(clorhidrato), (LMT.2HCl)</p>
	<p>HBr HBr</p>	<p>N,N,N',N'-tetrametil-10H-fenotiazina-3,7-diaminio di(bromhidrato), (LMT.2HBr)</p>

(continuación)



El documento WO2012/107706 describió otras sales LMTX que tienen propiedades superiores a las sales LMTX enumeradas anteriormente, incluyendo bis(hidrometanosulfonato) de leucometiltioninio (LMTM):

5



Específicamente, LMTM retiene la actividad de TAI *in vitro* e *in vivo* (Harrington *et al.*, 2015; Melis *et al.*, 2015) tiene propiedades farmacéuticas superiores en términos de solubilidad y pKa y no está sujeto a las limitaciones de absorción de la forma MT⁺ (Baddeley *et al.*, 2015).

10

Panza *et al.*, (2016) "Tau-Centric Targets and Drugs in Clinical Development for the Treatment of Alzheimer's Disease", Biomed Research International, vol. 2016, páginas 1-15, divulgan el uso de LMTM para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en una dosis de 200 mg/día de LMTM administrada dos veces al día. A continuación, la dosificación es flexible e incluye 100 mg/día.

15

Wilcock *et al.*, (2017) "Potential of Low Dose Leuco-Methylthioninium Bis(Hydromethanesulphonate) (LMTM) Monotherapy for Treatment of Mild Alzheimer's Disease: Cohort Analysis as Modified Primary Outcome in a Phase II Clinical Trial", Journal Of Alzheimer's Disease, vol. 61, n.º 1, páginas 435-457, divulgan comprimidos orales que comprenden 100 mg de LMTM. Los comprimidos se proporcionan en envases de tipo blíster.

20

Los documentos WO2007/110627 y WO2012/107706 describen unidades de dosificación que comprenden de 20 a 300 mg de los compuestos DAPTZ descritos en los mismos, por ejemplo de 30 a 200 mg, por ejemplo 30 mg, 60 mg, 100 mg, 150 mg, 200 mg. Se sugiere una dosis adecuada del compuesto DAPTZ en el intervalo de aproximadamente **100 ng a aproximadamente 25 mg (más típicamente de aproximadamente 1 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo** de peso corporal del sujeto por día, por ejemplo 100 mg, 3 veces al día, 150 mg, 2 veces al día, 200 mg, 2 veces al día.

25

El documento WO2018/019823 describe nuevos regímenes para el tratamiento de trastornos neurodegenerativos que utilizan compuestos que contienen metiltioninio (MT). En resumen, estos regímenes identificaron dos factores clave. El primero estaba relacionado con la dosis de los compuestos MT, y el segundo era su interacción con tratamientos sintomáticos basados en la modulación de los niveles de acetilcolinesterasa.

30

En el análisis descrito en el documento WO2018/019823, las dosis bajas de compuestos MT (por ejemplo, 4 mg dos veces al día) mostraron beneficios terapéuticos cuando se comparó la monoterapia con la terapia complementaria. Los perfiles de eficacia fueron similares en sujetos leves y moderados para la mayoría de los resultados medidos.

35

Además, el beneficio del tratamiento en la EA (según los criterios del ensayo) se restringió a los pacientes que tomaban LMTM como monoterapia. Por el contrario, la disminución observada a las dosis correspondientes en pacientes que tomaban LMTM en combinación con tratamientos marcados con EA (inhibidores de la acetilcolinesterasa [AChEI] y/o memantina), que eran la mayoría, era indistinguible en todos los parámetros de la observada en el brazo de control.

40

El potencial de los compuestos LMT para ser activos en dosis bajas y la aparente falta de una relación dosis-respuesta, se analizan en el documento WO2018/019823 y se plantea la hipótesis de que puede haber un umbral crítico para la actividad en el objetivo del inhibidor de agregación tau, y el efecto de dosis más altas puede estancarse o incluso volverse negativo en concentraciones cerebrales superiores a 1 µM (Melis, 2015). Con base en estos análisis, y dado que las dosis más bajas (4 mg dos veces al día) tuvieron un mejor perfil clínico general que la dosis alta (100 mg dos veces al día), el documento WO2018/019823 enseña métodos de tratamiento de trastornos neurodegenerativos de agregación de proteínas que comprenden la administración oral de compuestos que contienen MT, en donde dicha administración proporciona un total de entre 0,5 y 20 mg de MT al sujeto al día, opcionalmente en dosis única o dividida

45

en 2 o más dosis.

Otras publicaciones que utilizan "dosis baja" o "dosificación baja" en relación con los compuestos que contienen MT se describen en el documento WO2018/019823. Por ejemplo:

5 Telch, Michael J., *et al.* "Effects of post-session administration of methylene blue on fear extinction and contextual memory in adults with claustrophobia". *American Journal of Psychiatry* 171.10 (2014): 1091-1098; **esta publicación se refiere al uso de "azul de metileno en dosis bajas" en la retención de la extinción del miedo y la memoria contextual después del** entrenamiento de extinción del miedo. El artículo informa que "el azul de metileno es un fármaco de diamino fenotiazina que en dosis bajas (0,5-4 mg/kg) tiene propiedades de mejora neurometabólica. Las
10 dosis utilizadas en la publicación fueron 260 mg/día para participantes adultos, correspondiente a una dosis de 4 mg/kg.

Gonzalez-Lima F y Auchter A (2015) "Protection against neurodegeneration with low-dose methylene blue and near-infrared light". *Front. Cell. Neurosci.* 9:179. doi: 10.3389/fncel.2015.00179: esta publicación analiza los mecanismos
15 celulares que intervienen en los efectos neuroprotectores de dosis bajas de azul de metileno y luz infrarroja cercana. Hace referencia a un trabajo anterior que cita 0,5-4 mg/kg de azul de metileno como seguro y eficaz.

Alda, Martin, *et al.* "Methylene blue treatment for residual symptoms of bipolar disorder: randomised crossover study". *The British Journal of Psychiatry* (2016): doi: 10.1192/bjp.bp.115.173930: esta publicación describió el uso de una
20 "dosis baja" de 15 mg de azul de metileno como placebo en un ensayo de 6 meses. La "dosis activa" fue de 195 mg. En cada caso, la dosis se dividió tres veces al día.

Rodriguez, Pavel, *et al.* "Multimodal Randomized Functional MR Imaging of the Effects of Methylene Blue in the Human Brain". *Radiology* (2016): 152893: esta publicación también se refiere a la farmacocinética y los efectos secundarios
25 "conocidos" de la "dosis baja" (0,5-4,0 mg/kg) de azul de metileno, que se contrastan con los efectos de dosis superiores a 10 mg/kg. Las dosis utilizadas en la publicación fueron 280mg/día para participantes adultos, aproximadamente a una dosis de 4 mg/kg.

Naylor *et al.* (1986) "A two-year double-blind crossover trial of the prophylactic effect of methylene blue in manic-depressive psychosis". *Biol. Psychiatry* 21:915-920 and Naylor *et al.* (1987) A controlled trial of methylene blue in
30 severe depressive psychosis. *Biol. Psychiatry* 22:657-659: estos estudios utilizaron 15 mg/día de metileno, nominalmente como un placebo frente a un tratamiento de 300 mg/día de azul de metileno. Sin embargo, en el último artículo, los autores propusieron que la dosis de placebo podría actuar como antidepresivo.

35 Como se ha indicado anteriormente, debido a su actividad con respecto a la agregación de tau y la agregación de TDP-43, se han sugerido compuestos basados en MT para el tratamiento de la FTD (véanse los documentos WO2007/110630; WO2007/110627; WO2009/044127; WO2012/107706, todos descritos *supra*).

40 El documento WO2018/041739 describe los resultados de un ensayo clínico de fase 3 que investiga el tratamiento de la enfermedad de demencia frontotemporal (DFT) utilizando LMTM.

Los resultados indicaron que incluso una dosis relativamente baja del compuesto de MT (que se utilizó en el ensayo como control) puede mostrar beneficios en la DFT, en comparación con el deterioro cognitivo observado en controles
45 históricos.

Además, inesperadamente, los resultados indicaron fuertes efectos de interacción cuando el MT se medica conjuntamente con tratamientos para la EA que modifican la neurotransmisión sináptica en el cerebro. Aparecieron
50 beneficios cognitivos significativos en pacientes con FTD que tomaban MT en combinación con dichos tratamientos para la EA (por ejemplo, inhibidores de acetilcolinesterasa y/o memantina) en comparación con el MT solo. El documento WO2018/041739 describe además cómo los compuestos de MT pueden combinarse con inhibidores de la acetilcolinesterasa y/o memantina sin incompatibilidad aparente.

Los conocimientos proporcionados en los documentos WO2018/019823 y WO2018/041739 proporcionan una importante contribución a la técnica en relación con la dosificación mínima de compuestos de MT para lograr un
55 beneficio cognitivo en sujetos que padecen, o están en riesgo de padecer, trastornos neurodegenerativos tales como EA y DFT.

Sin embargo, es bien sabido que existe una variabilidad interindividual entre sujetos con respecto a cómo una dosis dada de un fármaco se traducirá en la concentración del fármaco en los fluidos corporales del sujeto. Es ventajoso
60 que cualquier régimen de dosificación que se vaya a aplicar a poblaciones de dichos sujetos pueda tener en cuenta, en la medida de lo posible, dicha variabilidad, con el fin de garantizar el máximo beneficio terapéutico para todos los sujetos, sin necesidad de regímenes personalizados y manteniendo, no obstante, un perfil clínico deseable.

Divulgación de la invención

65 Los presentes inventores han ideado un nuevo modelo farmacocinético (PK) para dosificar compuestos DE MT en

poblaciones de pacientes. Este modelo versátil derivó de un estudio de fase 1 en voluntarios de edad avanzada y se describe en los ejemplos que aparecen a continuación.

5 El nuevo modelo farmacocinético poblacional se utilizó luego para estimar la $C_{m\acute{a}x}$ del MT original en pacientes que recibieron LMTM en los dos ensayos de fase 3 de estudios de EA descritos en el documento WO2018/019823 (estudios "005" y "015", para el tratamiento de pacientes con EA leve o de leve a moderada, respectivamente). Una vez estimada la $C_{m\acute{a}x}$ en cada uno de los sujetos, se podría derivar una distribución de estimaciones de $C_{m\acute{a}x}$ para cada una de las poblaciones tratadas.

10 Como se esperaba, hubo una variabilidad sustancial en los valores de $C_{m\acute{a}x}$ de MT en la población para la dosis baja administrada. El análisis de esta distribución confirmó los hallazgos del documento WO2018/019823 de que las dosis bajas (4 mg MT dos veces al día) fueron eficaces (según lo medido, por ejemplo, mediante una reducción del deterioro en la subescala cognitiva de la Escala de Evaluación de la Enfermedad de Alzheimer (ADAS-cog). Además, confirmó que la monoterapia proporcionó un beneficio sustancial según este criterio en comparación con la terapia complementaria con AChEi y/o memantina (con un beneficio medio entre la monoterapia y la terapia complementaria de ~ 4 unidades ADAS-cog durante 65 semanas) (véase la Figura 3a).

15 Sin embargo, inesperadamente en vista de la literatura publicada que describía una falta de respuesta a la dosis reconocible, el nuevo análisis reveló que existe una respuesta de *concentración* dentro de la población tratada con dosis bajas. Esto se puede demostrar para pacientes que reciben 8 mg/día utilizando un análisis de $E_{m\acute{a}x}$ sigmoideo para la disminución de ADAS-cog₁₁ a lo largo de 65 semanas en pacientes agrupados de los estudios 015 y 005 (Figura 12).

20 Basado en una mediana del Umbral de $C_{m\acute{a}x}$ dividido de la población, el grupo de individuos con una $C_{m\acute{a}x}$ estimada "alta" mostró una mejora de aproximadamente ~ 2 a 3 unidades ADAS-cog en comparación con el **grupo de individuos con una $C_{m\acute{a}x}$ estimada "baja"** (véase la Figura 3a).

25 Sin embargo, basándose en la división de los pacientes según el umbral de 0,373 ng/ml, que engloba el 35 % de los pacientes con los valores más bajos, la diferencia de tratamiento en pacientes que reciben la dosis de 8 mg/día es de -3,4 unidades ADAS-cog (véase la Figura 14).

30 Estos conocimientos sugieren que es ventajoso adoptar un régimen de dosificación que maximice la proporción de sujetos en los que la concentración de MT superará la $C_{m\acute{a}x}$ o umbral C_{prom} y también maximiza la eficacia terapéutica esperada de LMTM ya sea que se tome solo o en combinación con (o al menos precedido por) tratamientos sintomáticos, manteniendo, sin embargo, una dosis relativamente baja para mantener un perfil clínico deseable en relación con una buena tolerancia con efectos secundarios mínimos.

35 La concentración-respuesta bifásica global para LMTM que se muestra en la Figura 17 respalda la proposición de que la dosis mínima que logra todos estos objetivos es al menos 20 mg/día y se esperaría que dosis en el intervalo de 20-40 mg/día o de 20-60 mg/día maximicen el beneficio terapéutico, aunque todavía se puede observar una buena eficacia, particularmente en pacientes con EA que no han recibido tratamiento previo con tratamientos sintomáticos, a dosis de 100 mg o más.

40 El nuevo modelo farmacocinético poblacional se utilizó además para estimar la $C_{m\acute{a}x}$ del MT original en pacientes que recibieron diferentes dosis de LMTM dos veces al día en el ensayo clínico de fase 3 que investiga el tratamiento de la DFTvc descrito en el documento WO2018/041739.

45 Estos resultados confirmaron la relación concentración-respuesta de la monoterapia de dosis baja para obtener un beneficio clínico medido por el cambio durante 52 semanas en la escala cognitiva (ACE-R) y en la escala funcional (FAQ), similar al observado en la EA. Existe una relación concentración-respuesta similar para las medidas de progresión de la atrofia cerebral por resonancia magnética (volumen frontotemporal, volumen ventricular lateral, volumen cerebral total). Esto se muestra en la Figura 18.

50 Como se puede observar al comparar los gráficos de la ecuación de Hill expandida correspondiente de EA y DFTvc (Figura 17 y Figura 20), la naturaleza bifásica de la relación concentración-respuesta es más evidente en la DFTvc. Esto implica que el intervalo de dosificación óptimo para lograr el máximo beneficio del tratamiento en la DFTvc es algo más estrecho en la DFTvc, es decir, 20-40 mg/día, o menos preferentemente 20-60 mg/día.

55 Como se ha visto anteriormente en el documento WO2018/041739, existe un beneficio adicional en la combinación con tratamientos sintomáticos, lo que se puede observar particularmente en pacientes con niveles plasmáticos por debajo de la media poblacional para $C_{m\acute{a}x,ss}$.

60 A la luz de los resultados descritos en el presente documento, se puede observar que existen al menos dos beneficios distintos al utilizar la dosis mínima del compuesto MT que maximiza el efecto beneficioso del tratamiento. En primer lugar, ciertos acontecimientos adversos o efectos secundarios raros asociados con MT ocurren de manera relacionada con la dosis. Por lo tanto, es claramente deseable evitar dosis más altas de las necesarias para mantener un perfil

clínico óptimo. En segundo lugar, existe evidencia de una relación dosis-respuesta inversa para ciertos criterios terapéuticos en dosis altas: por lo tanto, el beneficio puede en realidad atenuarse en dosis altas.

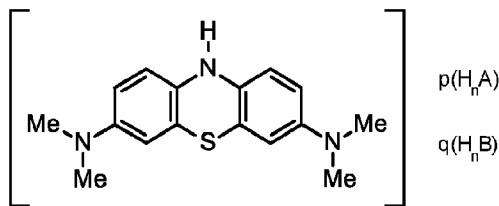
5 En general, estos nuevos hallazgos indican que existe un beneficio en el uso de tratamientos con LMT de "dosis bajas" ligeramente más altas de lo que se había supuesto anteriormente, e indican además que los tratamientos con LMT pueden, en algunos contextos, utilizar ventajosamente como complemento a los tratamientos sintomáticos, lo que aumenta la versatilidad de los regímenes terapéuticos a base de MT.

10 Un análisis posterior realizado por los inventores indicó que una dosis superior 20 mg de MT (por ejemplo, administrados como LMTM) alcanzarán una $C_{máx}$ superior al valor umbral derivado de la mediana en el 90 al 100 % de los sujetos (véase la Figura 5), y el porcentaje preciso dependerá del número de dosis divididas que se empleen.

15 Con respecto a los tratamientos de la EA, tales tratamientos serían preferentemente una monoterapia, o al menos introducidos antes o después del cese de los tratamientos de EA actualmente disponibles, AChEI y memantina. Sin embargo, es importante destacar, como se ha explicado anteriormente, que el análisis descrito en el presente documento indica que incluso cuando se utilizan tratamientos con MT como terapia complementaria, puede haber un beneficio (de ~ 2 unidades ADAS-cog, o más) en la dosificación para lograr una $C_{máx}$ por encima del valor umbral, en comparación con un valor $C_{máx}$ bajo.

20 Por lo tanto, en un aspecto, se desvela un compuesto que contiene metiltioninio ("MT") para su uso en un método de tratamiento terapéutico o profiláctico de trastornos neurodegenerativos en un sujeto humano, cuyo tratamiento comprende administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT,

25 en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 20,5 y 60 mg de MT al sujeto al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis, en donde el compuesto que contiene MT es un compuesto LMTX de la siguiente fórmula:



30 en donde cada uno de H_nA y H_nB (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes, y en donde $p = 1$ o 2 ; $q = 0$ o 1 ; $n = 1$ o 2 ; $(p + q) \times n = 2$, y en donde el trastorno se selecciona entre la lista que consiste en:
 35 enfermedad de Alzheimer;
 enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva; complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-
 amiotrofia, degeneración palido-ponto-nigral, síndrome de Guam-ELA, degeneración palido-nigro-luisiana,
 degeneración corticobasal, demencia con granos argirofílicos, demencia pugilística o encefalopatía traumática
 crónica, síndrome de Down, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Niemann-Pick, de tipo C,
 40 síndrome de Sanfilippo tipo B, o una distrofia miotónica DM1 o DM2.

La dosis diaria total de MT puede estar entre 20,5 o 21 y 60 mg.

45 La dosis diaria total puede ser de aproximadamente 20,5, 21, 21,5, 22, 22,5, 23, 23,5, 24 mg a alrededor de 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 mg.

La dosis diaria total puede ser de aproximadamente 20,5, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 mg.

50 Una dosis de ejemplo es de 20,5 o 21 a 40 mg.

Una dosis ilustrativa adicional es de 22 a 35 mg.

Una dosis ilustrativa adicional es de 23 a 30 mg.

55 La presente invención se refiere a la administración de MT en forma reducida (LMT).

La dosis diaria total del compuesto puede administrarse como una dosis dividida dos veces al día o tres veces al día.

Tal como se explica a continuación, cuando se administra la dosis de MT dividida en un mayor número de dosis/día, se puede desear utilizar una cantidad total menor dentro del intervalo mencionado, en comparación con una sola dosis diaria, o una menor cantidad de dosis por día.

5 Como se explica en el presente documento, en algunas realizaciones, en particular en lo que respecta al tratamiento de la EA, el tratamiento será una monoterapia o al menos excluirá la comedición con AChEI y memantina. En algunas realizaciones, se seleccionan sujetos que no hayan recibido un tratamiento previo reciente con AChEI o memantina u otros tratamientos sintomáticos, pero dicho tratamiento se inicia o reinicia opcionalmente después del inicio del tratamiento con LMT.

10 Por lo tanto, como se explica en el presente documento, en otras realizaciones, el tratamiento será una terapia complementaria, por ejemplo, medicación concomitante con AChEI y/o memantina. Por lo tanto, los pacientes que ya reciben AChEI y/o memantina pueden beneficiarse de recibir estas dosis del compuesto MT, mientras los pacientes reciben estas dosis del compuesto MT, pueden beneficiarse de AChEI y/o memantina.

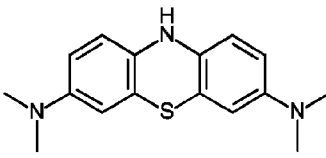
15 En algunas realizaciones, el tratamiento es parte de un régimen de tratamiento que comprende:

- 20 (i) administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT durante un primer período de tiempo, en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 1 y 10 mg de MT al sujeto al día, opcionalmente 8 mg al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis;
- (ii) administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT durante un período de tiempo adicional, en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 20,5 y 60mg de MT al sujeto al día, opcionalmente, aproximadamente de 21 a 40, 50 o 60 mg al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis;
- 25 (iii) combinar opcionalmente el tratamiento en (ii) con la administración de un compuesto modificador de la neurotransmisión que es un modificador de la actividad de los neurotransmisores acetilcolina o glutamato, tal como un AChEI y/o memantina.

Estas diferentes fases del régimen normalmente se sucederán inmediatamente una tras otra.

30 Estos aspectos y realizaciones se describirán a continuación con más detalle:

Fracción de metiltioninio

Estructura	
IUPAC	N3,N3,N7,N7-tetrametil-10H-fenotiazina-3,7-diamina
Composición	Peso fórmula: 285.41(1) Masa exacta: 285.1299683(1) Fórmula: C ₁₆ H ₁₉ N ₃ S Composición: C 67,33 % H 6,71 % N 14,72 % S 11,23 %
Sinónimo	leucometiltioninio (LMT)

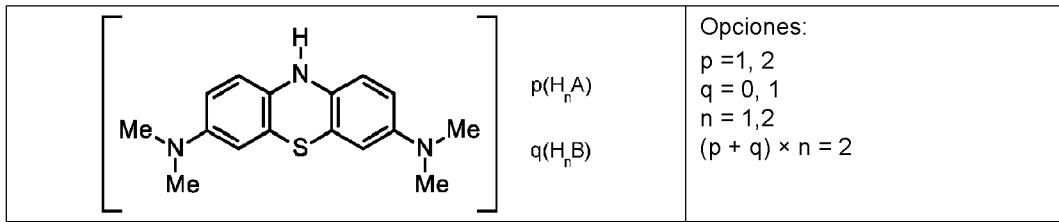
35 Los compuestos que contienen MT utilizados en la presente invención contienen una fracción de MT como principio activo en forma reducida (**denominada "LMT"**). La fracción de LMT *per se* descrita anteriormente no es estable. Por lo tanto, se administrarán como sales de LMTX.

40 Los expertos en la materia pueden calcular fácilmente el contenido de MT de dichas sales basándose en el peso molecular del compuesto y el peso molecular de la fracción de MT. En el presente documento se dan ejemplos de dichos cálculos.

Compuestos de LMTX

45 Como se ha indicado anteriormente, el compuesto de MT es un compuesto de "LMTX" del tipo descrito en los documentos WO2007/110627 o WO2012/107706.

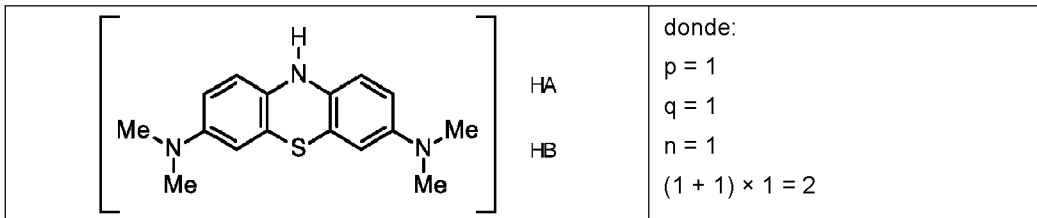
Por tanto, el compuesto puede seleccionarse entre compuestos de la siguiente fórmula, o hidratos o solvatos de los mismos:



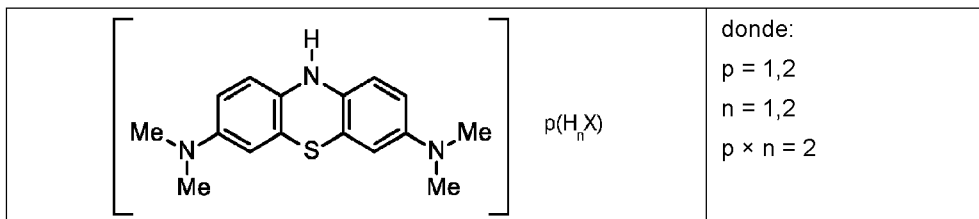
Cada uno de H_nA y H_nB (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes.

- 5 Por "ácido prótico" se entiende un donante de protones (H^+) en solución acuosa. Dentro del ácido prótico A^- o B^- es, por tanto, una base conjugada. Por tanto, los ácidos próticos tienen un pH inferior a 7 en el agua (es decir, la concentración de iones de oxonio es superior que 10^{-7} moles por litro).

- 10 En una realización, la sal es una sal mixta que tiene la siguiente fórmula, donde HA y HB son ácidos monopróticos diferentes:

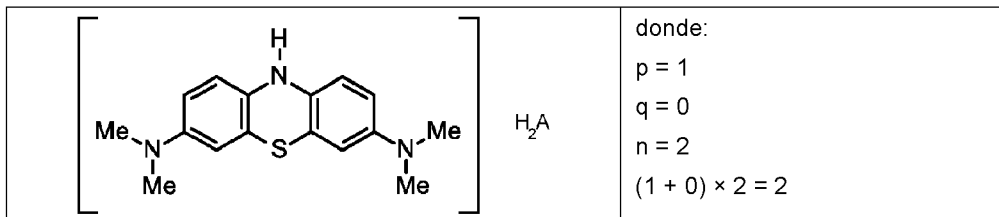


Sin embargo, preferentemente la sal no es una sal mixta y tiene la siguiente fórmula:

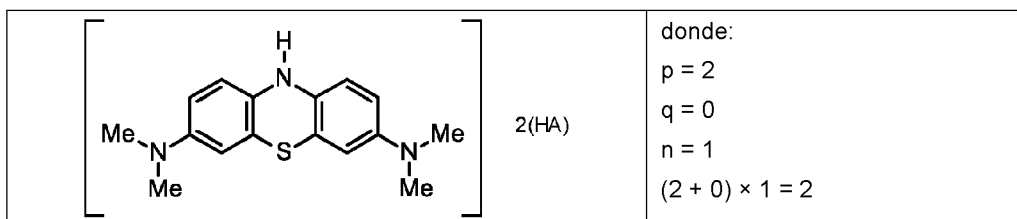


- 15 en donde cada uno de H_nX es un ácido prótico, tal como un ácido diprótico o ácido monoprótico.

En una realización, la sal tiene la siguiente fórmula, donde H_2A es un ácido diprótico:



- 20 Preferentemente, la sal tiene la siguiente fórmula que es un ácido bis monoprótico:



- 25 Ejemplos de ácidos próticos que pueden estar presentes en los compuestos de LMTX usados en el presente documento incluyen:

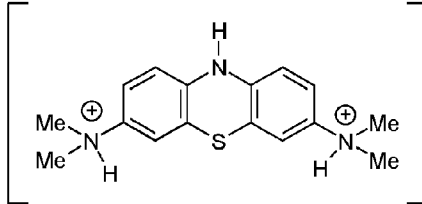
Ácidos inorgánicos: ácidos hidroháluros (por ejemplo, HCl, HBr), ácido nítrico (HNO₃), ácido sulfúrico (H₂SO₄)

Ácidos orgánicos: ácido carbónico (H₂CO₃), ácido acético (CH₃COOH), ácido metanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido etanosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico,

5

Ácidos preferidos son el ácido monoprótico y la sal es una sal bis(ácido monoprótico).

Un compuesto de MT preferido es LMTM:

1		MeSO_3^- MeSO_3^-	LMT.2MsOH (LMTM)	477,6 (1,67)
---	---	--	------------------	--------------

10

Factores de peso

La sal anhidra tiene un peso molecular de alrededor de 477,6. Basado en un peso molecular de 285,1 para el núcleo de LMT, el factor de peso para usar este compuesto de MT en la invención es 1,67. Por "factor de peso" se entiende el peso relativo del compuesto que contiene MT puro frente al peso de MT que contiene.

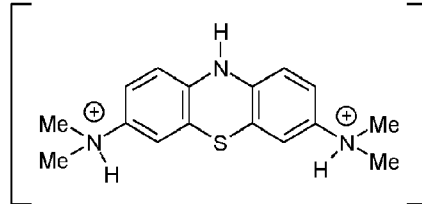
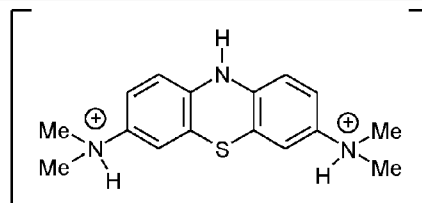
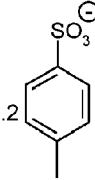
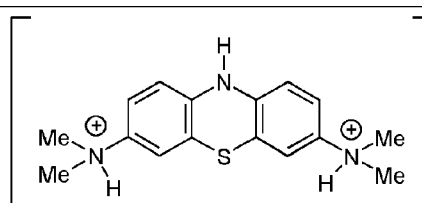
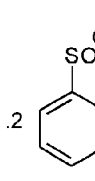
15

Se pueden calcular otros factores de peso, por ejemplo, para los compuestos de MT ilustrativos en el presente documento y a partir de ellos se pueden calcular los intervalos de dosificación correspondientes.

20

Por tanto, la invención abarca una dosis diaria total de alrededor de 34 a 100 mg/día de LMTM.

Otros ejemplos de compuestos de LMTX son los siguientes. También se muestra su peso molecular (anhidro) y factor de peso:

2		EtSO_3^- EtSO_3^-	LMT.2EsOH	505,7 (1,77)
3			LMT.2TsOH	629,9 (2,20)
4			LMT.2BSA	601,8 (2,11)

25

(continuación)

5		LMT.EDSA	475,6 (1,66)
6		LMT.PDSA	489,6 (1,72)
7		LMT.NDSA	573,7 (2,01)
8		HCl HCl	LMT.2HCl 358,33 (1,25)

Las dosis descritas en el presente documento con respecto a MT se aplican por tanto, con los cambios que correspondan, para estos compuestos que contienen MT, ajustados por su peso molecular.

5

Factores de acumulación

Como apreciarán los expertos en la materia, para una dosis diaria dada, una dosificación más frecuente puede conducir a una mayor acumulación de un fármaco.

10

Por lo tanto, en determinadas realizaciones de la invención reivindicada, la cantidad diaria total dosificada del compuesto MT puede ser relativamente menor dentro del intervalo mencionado, cuando se dosifica con mayor frecuencia (por ejemplo, dos veces al día [bid] o tres veces al día [tid]), o una dosis más alta dentro del rango mencionado cuando se dosifica una vez al día [qd].

15

Tratamiento y profilaxis

El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere en general al tratamiento y la terapia, ya sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción de la velocidad de progreso, una detención de la velocidad de progreso, la regresión de la afección, la mejora de la afección y la curación de la afección.

20

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto de la invención, o un material, composición o dosificación que comprende dicho compuesto, que es

25

eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado. Los presentes inventores han demostrado que una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto MT con respecto a las enfermedades de la invención puede ser mucho menor de lo que se entendía hasta ahora en la técnica.

5 La invención también abarca el tratamiento como medida profiláctica. La expresión "cantidad profilácticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a esa cantidad de un compuesto de la invención, o un material, composición o dosificación que comprende dicho compuesto, que es eficaz para producir algún efecto profiláctico deseado, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de
10 tratamiento deseado.

"Profilaxis" en el contexto de la presente memoria descriptiva no se entenderá que circunscribe un éxito completo, es decir, protección completa o prevención completa. Más bien, profilaxis en el presente contexto se refiere a una medida que se administra antes de la detección de una afección sintomática con el fin de conservar la salud ayudando a
15 retrasar, mitigar o evitar esa afección particular.

Tratamientos combinados y monoterapia

El término "tratamiento" incluye tratamientos y terapias combinados, en el que se combinan dos o más tratamientos o
20 terapias para el mismo trastorno neurodegenerativo, por ejemplo, de forma secuencial o simultánea. Estos pueden ser tratamientos sintomáticos o modificadores de la enfermedad.

La combinación particular quedaría a criterio del médico.

25 En tratamientos combinados, los agentes (es decir, un compuesto MT como se describe en el presente documento, más uno o más agentes adicionales) pueden administrarse simultánea o secuencialmente, y pueden administrarse en pautas de dosis que varían de forma individual, y a través de vías distintas. Por ejemplo, cuando se administran secuencialmente, los agentes pueden administrarse a intervalos estrechamente espaciados (por ejemplo, durante un periodo de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, separados 1, 2, 3, 4 o más horas, o incluso, cuando
30 sea necesario, separados por períodos más largos), siendo la pauta posológica precisa proporcional a las propiedades del agente terapéutico (o agentes terapéuticos).

Un ejemplo de un tratamiento combinado de la invención (para la EA) sería un agente que es un compuesto que contiene MT en la dosis especificada en combinación con un agente que es un inhibidor del procesamiento de la
35 proteína precursora de amiloide a beta-amiloide (por ejemplo, un inhibidor del procesamiento de la proteína precursora de amiloide). que conduce a una mayor generación de beta-amiloide).

La invención también permite la coadministración de uno o ambos de: un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

40 **En otras realizaciones el tratamiento es una "monoterapia", lo que quiere decir que el compuesto que contiene MT no se usa en combinación (dentro del significado discutido anteriormente) con otro agente activo para tratar el mismo trastorno neurodegenerativo de agregación de proteínas en el sujeto.**

45 *Duración del tratamiento*

Para el tratamiento del trastorno neurodegenerativo descrito en el presente documento, un régimen de tratamiento basado en los compuestos de MT en dosis bajas se extenderá preferentemente durante un período sostenido de
50 tiempo. La duración particular quedaría a criterio del médico.

Por ejemplo, la duración del tratamiento puede ser:

Al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12 meses o más.

55 Al menos 2, 3, 4, 5 años o más.

Entre 6 y 12 meses.

Entre 1 y 5 años.

60 Para la profilaxis, el tratamiento puede continuar.

En todos los casos, la duración del tratamiento generalmente estará sujeta al consejo y revisión del médico.

65 *Criterios de valoración deseados*

Los métodos (régimenes de dosificación) descritos en el presente documento pueden utilizarse para lograr un resultado terapéutico o profiláctico particular específico. Ese resultado específico puede cuantificarse según una escala relevante para el trastorno neurodegenerativo. Estas escalas pueden, por ejemplo, medir el cambio de criterios cognitivos, funcionales o físicos relevantes para el trastorno. Los ejemplos del presente documento ilustran escalas apropiadas mediante las cuales se puede confirmar el efecto del régimen de dosificación, en comparación con placebo u otro punto de referencia (por ejemplo, diferentes regímenes de dosificación). **Entre ellas se incluye la Escala de evaluación de la enfermedad de Alzheimer**, subescala cognitiva (ADAS-cog) utilizada en relación con la EA y el Examen Cognitivo de Addenbrooke revisado (ACE-R) utilizado en relación con la DFTvc.

Por lo tanto, a modo de ejemplo no limitante, en una realización en donde el tratamiento es un tratamiento para la EA que logra (o está destinado a lograr) una reducción en el deterioro cognitivo en el sujeto, que es, opcionalmente, al menos una reducción de 1, 2, 2.5, 3, 4, 5 o 6 puntos en la Escala de evaluación de la enfermedad de **Alzheimer** de 11 elementos, subescala cognitiva (ADAS-cog), en un periodo de 65 semanas en comparación con un control correspondiente o población de control que no está siendo tratada de acuerdo con la invención.

Formas de dosificación farmacéutica

El compuesto MT de la invención, o la composición farmacéutica que lo comprende, se administra a un sujeto/paciente por vía oral.

Normalmente, el compuesto MT puede administrarse como una composición que comprende el compuesto y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La composición puede ser una composición farmacéutica (por ejemplo, formulación, preparación, medicamento) que comprende un compuesto como se describe en el presente documento, y un vehículo farmacéuticamente aceptable, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, ingrediente, materiales, composiciones, las formas farmacéuticas, etc., que son, dentro del alcance de un buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, un ser humano) sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, **diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los** otros ingredientes de la formulación.

La composición puede ser una composición farmacéutica que comprenda al menos un compuesto, como se describe en el presente documento, junto con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo, aunque no de forma limitativa, vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes de enmascaramiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes.

La composición puede comprender además otros agentes activos, por ejemplo, otros agentes terapéuticos o profilácticos.

Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados se pueden encontrar en textos farmacéuticos convencionales. Véase, por ejemplo, Handbook of Pharmaceutical Additives, 2.^a edición (eds. M. Ash e I. Ash), 2001 (Synapse Information Resources, Inc., Endicott, New York, EE.UU.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 20.^a edición, pub. Lippincott, Williams & Wilkins, 2000; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2.^a edición, 1994.

En el presente documento se desvela una unidad de dosificación (por ejemplo, un comprimido o cápsula farmacéutica) que comprende un compuesto MT como se describe en el presente documento (por ejemplo, obtenido por, u obtenible por, un método como se describe en el presente documento; que tiene una pureza como la descrita en el presente documento; etc.) y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El "compuesto MT", aunque presente en cantidades relativamente bajas, es el **agente activo** de la unidad de dosificación, es decir, se pretende que tenga un efecto terapéutico o profiláctico con respecto a un trastorno neurodegenerativo de la agregación de proteínas. Más bien, los demás ingredientes de la unidad de dosificación serán terapéuticamente inactivos, por ejemplo vehículos, diluyentes o excipientes. Por lo tanto, preferentemente, no habrá ningún otro principio activo en la unidad de dosificación, ningún otro agente destinado a tener un efecto terapéutico o profiláctico con respecto a un trastorno para el que se pretende utilizar la unidad de dosificación.

La unidad de dosificación puede ser un comprimido.

La unidad de dosificación puede ser una capsula.

Las cápsulas pueden ser cápsulas de gelatina.

Las cápsulas pueden ser cápsulas de HPMC (hidroxipropilmetilcelulosa).

La cantidad adecuada de MT en la composición dependerá de la frecuencia con la que el sujeto la tome al día.

5

Una unidad de dosificación ilustrativa puede contener de 8 a 32 mg de MT.

Una unidad de dosificación ilustrativa adicional puede contener de 8 a 16 mg de MT.

10 En algunas realizaciones, la cantidad es de aproximadamente 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60 mg de MT.

15 Usando los factores de peso descritos o explicados en el presente documento, un experto en la materia puede seleccionar cantidades apropiadas de un compuesto que contiene MT para su uso en formulaciones orales.

Como se ha explicado anteriormente, el factor de peso de MT para LMTM es 1,67. Dado que es conveniente utilizar cantidades unitarias o fraccionarias simples de principios activos, las unidades de dosificación de LMTM ilustrativas no limitantes pueden incluir 13,4, 15, 16,7 mg, etc.

20

En una realización, se proporciona una composición farmacéutica unitaria de dosificación que comprende aproximadamente 34, 67 o 100 mg de LMTM.

Composiciones nutraceuticas

25

Las composiciones que contienen MT utilizadas en la invención pueden estar presentes en una "composición nutraceutica" que contiene una dosis apropiada de compuesto MT, como se describe en el presente documento, en combinación con uno o más nutrientes en forma comestible (por ejemplo, una forma de dosificación oral).

30 Las nuevas composiciones nutraceuticas descritas en el presente documento pueden encontrar uso como complementos de alimentos y bebidas, y como composiciones farmacéuticas.

"Nutrientes", como se usa en el presente documento, se refiere a los componentes de las composiciones nutraceuticas que cumplen una función bioquímica y/o fisiológica en el cuerpo humano o animal. "Nutrientes" incluye sustancias tales como vitaminas, minerales, oligoelementos, micronutrientes, antioxidantes y similares, así como otros materiales bioactivos, tales como enzimas o compuestos producidos biosintéticamente por enzimas humanas o animales; así como hierbas y extractos de hierbas; ácidos grasos, aminoácidos y derivados de los mismos.

35

"Forma comestible" denota una composición que puede ingerirse directamente o convertirse en una forma ingerible, tal como, al disolverse en agua.

40

Como alternativa, la composición nutraceutica puede estar en forma de alimento o bebida, tal como una porción definida de un producto alimenticio (término que incluye tanto comida como bebida) complementada con la dosis definida de compuesto MT. Estos productos alimenticios comprenderán típicamente uno o más de una grasa, una proteína o un carbohidrato.

45

El término "nutraceutico", como se usa en el presente documento, denota una utilidad tanto en el campo de aplicación nutricional como farmacéutico y la divulgación del presente documento relacionada con las formas de dosificación farmacéutica se aplica *mutatis mutandis* a las composiciones nutraceuticas.

50

Las formas de dosificación oral particularmente adecuadas para las composiciones nutraceuticas son bien conocidas en la técnica y se describen con más detalle en otra parte del presente documento. Incluyen polvos, cápsulas, píldoras, comprimidos, comprimidos oblongos, cápsulas de gel y porciones definidas de alimentos comestibles. Las formas líquidas incluyen soluciones o suspensiones. Se dan ejemplos generales de formas de dosificación y formas nutraceuticas, por ejemplo, en el documento WO2010/078659.

55

Algunos ejemplos de nutrientes útiles en las composiciones de la presente invención son los siguientes. La presente divulgación contempla cualquier combinación de estos nutrientes:

60 *Vitaminas*

Se informa que la suplementación con vitamina B (ácido fólico [folato, vitamina B₉], vitamina B₁₂, vitamina B₆) puede retrasar la atrofia de regiones específicas del cerebro que son un componente clave del proceso de la EA y que están asociadas con el deterioro cognitivo. Este es particularmente el caso de los sujetos de edad avanzada con altos niveles de homocisteína (Douaud, Gwenaëlle, *et al.* "Preventing Alzheimer's disease-related gray matter atrophy by B-vitamin treatment". Proceedings of the National Academy of Sciences 110.23 (2013): 9523-9528; véase también Quadri,

65

Pierluigi, *et al.* "Homocysteine, folate, and vitamin B12 in mild cognitive impairment, Alzheimer disease, and vascular dementia". *The American journal of clinical nutrition* 80.1 (2004): 114-122; Rosenberg IH, Miller JW. Nutritional factors in physical and cognitive functions of elderly people. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1992 Jun 1;55(6):1237S-1243S.).

5 Se ha sugerido que, junto con otros antioxidantes (véase más abajo), la vitamina C puede tener utilidad en la protección del tejido neural, así como potencialmente disminuir la generación de β -amiloide y la actividad de la acetilcolinesterasa y previene la disfunción endotelial mediante la regulación del óxido nítrico (véase, por ejemplo, Heo JH, Hyon-Lee, Lee KM. The possible role of antioxidant vitamin C in Alzheimer's disease treatment and prevention. *American Journal of Alzheimer's Disease & Other Dementias*. 2013 Mar;28(2):120-5).

También se ha sugerido que la suplementación con vitamina E puede desempeñar un papel en el tratamiento de la EA (véase, por ejemplo, Mangialasche, Francesca, *et al.* "Serum levels of vitamin E forms and risk of cognitive impairment in a Finnish cohort of older adults". *Experimental Gerontology* 48.12 (2013): 1428-1435).

15 *Micronutrientes, antioxidantes*

Se ha indicado que los micronutrientes o los antioxidantes, como los polifenoles, tienen beneficios en relación con la protección o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad, incluidas las neurodegenerativas, particularmente el deterioro cognitivo y la EA.

20 Los micronutrientes y/o antioxidantes que se pueden utilizar en las composiciones nutraceuticas descritas en el presente documento incluyen los flavonoides que se muestran en la siguiente tabla (reproducido de Mecocci, Patrizia, *et al.* "Nutraceuticals in cognitive impairment and Alzheimer's disease". *Frontiers in Pharmacology* 5:147 (2014)): Subgrupos químicos de flavonoides y fuentes alimentarias relativas:

25

Grupos	Moléculas	Fuente de alimento
FLAVANOLES	Catequina, epicatequina, epigallocatequina, galato de epigallocatequina (EGCG)	cacao y chocolate, té verde, uvas
FLAVONOLES	Kaempferol, quercetina	Cebollas, manzanas, té verde, alcaparras, puerros, brócoli
FLAVONAS	Luteolina, apigenina	apio, perejil, romero
ISOFLAVONAS	Daidzeína, genisteína	Soja
FLAVANONAS	Hesperetina, naringenina	frutos cítricos, tomates
ANTOCIANIDINAS	Pelargonidina, cianidina, malvidina	frutos de baya, vino tinto

Otros micronutrientes con utilidad potencial en relación con la protección o el tratamiento de enfermedades relacionadas con la edad, y descritos por Mecocci *et al* incluyen:

- 30
- Polifenoles no flavonoides: resveratrol y curcumina,
 - Carotenoides: licopeno, luteína, zeaxantina, β -criptoxantina, α -caroteno y el carotenoide más prominente, β -caroteno,
- 35
- Crocina (el principal compuesto químico identificado en el azafrán),
 - Diterpenos: por ejemplo, los ácidos carnósico y rosmarínico son dos de los compuestos antioxidantes más importantes del romero.

40 *Hierbas y extractos de plantas*

Además de las plantas descritas o referenciadas anteriormente en relación con los micronutrientes y antioxidantes, se informa que otros extractos de plantas y hierbas tienen beneficios en los trastornos del SNC, véase Kumar, Vikas. "Potential medicinal plants for CNS disorders: an overview". *Phytotherapy Research* 20.12 (2006): 1023-1035. Éstas incluyen *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum* (**hierba de San Juan**), *Piper methysticum* Forst. (Familia Piperaceae) también llamada kava kava, *Valeriana officinalis* L. (Valeriana), *Bacopa monniera* (que en la India se conoce localmente como Brahmi o Jalanimba), *Convolvulus pluricaulis* (también conocido como Shankpushpi o shankapushpi)

50 *Aceites y grasas*

Se ha indicado que el ácido graso poliinsaturado (PUFA) ω -3, por ejemplo, puede ser una herramienta prometedora para prevenir el deterioro cerebral relacionado con la edad. Las fuentes de PUFA tales como (ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6) y ácido eicosapentenoico (EPA, 20:5) incluyen aceites de pescado (Denis, I., *et al.* "Omega-3 fatty acids and brain resistance to ageing and stress: body of evidence and possible mechanisms". *Ageing Research Reviews* 12.2 (2013): 579-594).

55 *Los sujetos, pacientes y grupos de pacientes*

El sujeto/paciente es un ser humano.

5 En realizaciones preferidas, el sujeto/paciente es un ser humano al que se le ha diagnosticado uno de los trastornos cognitivos o del SNC descritos en el presente documento, o (para el tratamiento profiláctico) evaluado como susceptible a uno de los trastornos neurodegenerativos de la agregación de proteínas (por ejemplo, trastorno cognitivo o del SNC) descritos en el presente documento, por ejemplo, en base a datos familiares, genéticos o de otro tipo.

10 El paciente puede ser un ser humano adulto y las dosis basadas en la población descritas en el presente documento se basan en esa premisa (peso típico de 50 a 70 kg). Si se desea, las dosis correspondientes se pueden utilizar para sujetos que están fuera de este intervalo utilizando un factor de peso del sujeto mediante el cual el peso del sujeto se divide por 60 kg para proporcionar el factor multiplicativo para ese sujeto individual.

15 Por lo tanto, por ejemplo, para el diagnóstico de la EA y la evaluación de la gravedad, la selección inicial de un paciente puede implicar uno o más de: evaluación rigurosa por un médico experimentado; exclusión del diagnóstico de no EA en la medida de lo posible mediante estudios complementarios de laboratorio y de otro tipo; evaluación objetiva del nivel de función cognitiva utilizando una batería validada neuropatológicamente.

20 El diagnóstico de EA y otros trastornos descritos en el presente documento puede ser realizado por médicos mediante métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

25 Como se explica en el presente documento, Los compuestos MT de una dosis apropiada pueden demostrar beneficios (por ejemplo, en relación con una tasa de deterioro más lenta medida por ADAS-Cog) incluso en sujetos o poblaciones de pacientes que reciben tratamiento para la EA utilizando un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato.

30 Los ejemplos de inhibidores de la acetilcolinesterasa incluyen Donepezilo (Aricept™), Rivastigmina (Exelon™) o Galantamina (Reminyl™). Un ejemplo de un antagonista del receptor NMDA es Memantina (Ebixa™, Namenda™). Los ejemplos de la dosis diaria total de estos compuestos modificadores de la neurotransmisión son los siguientes: Donepezil: entre 5 y 23 mg; Rivastigmina: entre 3 y 12 mg; Galantamina: entre 4 y 24 mg; Memantina: entre 5 y 20 mg.

35 Por lo tanto, en una realización de la presente invención se proporciona un compuesto que contiene metiltioninio ("MT") para su uso en un método de tratamiento (o profilaxis) de la EA en un sujeto,

cuyo método comprende administrar por vía oral a dicho sujeto un compuesto que contiene metiltioninio (MT) en la dosis definida en las reivindicaciones, en donde dicho tratamiento comprende además la administración de uno o ambos de un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

40 En otras realizaciones, el sujeto o grupo de pacientes con EA puede ser totalmente virgen con respecto a estos otros tratamientos y no haber recibido históricamente uno o ambos de un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato.

45 Como alternativa, el sujeto o grupo de pacientes con EA pueden haber recibido históricamente uno o ambos, pero cesó ese medicamento al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días, o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 o 16 semanas, o más preferentemente al menos 1, 2, 3, 4, 5 o 6 meses, etc. antes del tratamiento con un compuesto MT según la presente invención.

50 Cualquier aspecto de la presente invención puede incluir la etapa activa de seleccionar el sujeto o grupo de pacientes con EA de acuerdo con estos criterios o seleccionar un sujeto o grupo de pacientes con EA que está o está recibiendo tratamiento con un inhibidor de acetilcolinesterasa o un inhibidor de N-metil-D-aspartato, e interrumpir ese tratamiento (instruir al sujeto o grupo de pacientes a interrumpir ese tratamiento) antes del tratamiento con un compuesto de MT según la presente invención.

55 Dicho tratamiento puede iniciarse o reiniciarse opcionalmente después del comienzo del tratamiento con el compuesto MT.

Marcadores, instrucciones y kits de piezas

60 Las composiciones de dosificación unitaria descritas en el presente documento (por ejemplo ej., una dosis baja de compuesto que contiene MT más opcionalmente otros ingredientes, o una composición de MT más generalmente para el tratamiento de la EA) pueden proporcionarse en un paquete etiquetado junto con instrucciones para su uso.

65 El envase puede ser una botella, como son bien conocidos en la materia farmacéutica. Una botella típica puede estar hecha de HDPE (polietileno de alta densidad) de calidad farmacopeica con un cierre a prueba de niños, cierre de pulsador de HDPE y contiene desecante de gel de sílice, que está presente en sobres o botes. El frasco en sí puede comprender una etiqueta y estar empaquetado en un recipiente de cartón con instrucciones para usar y,

opcionalmente, una copia adicional de la etiqueta.

5 El envase o envoltura puede ser un blíster (preferentemente uno que tenga una cavidad de aluminio y una hoja de aluminio) que, por tanto, es sustancialmente impermeable a la humedad. En este caso, el envase puede ser empacquetado en un recipiente de cartón con instrucciones para usar y etiqueta en el recipiente.

Dicha etiqueta o instrucciones pueden proporcionar información sobre los trastornos neurodegenerativos de la agregación de proteínas (por ejemplo, trastornos cognitivos o del SNC) para los que está destinado el medicamento.

10 Cuando el medicamento esté indicado para la EA, dicha etiqueta o instrucciones pueden proporcionar información instruyendo al usuario que las composiciones no deben usarse junto con ninguno de: un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

15 Dicha etiqueta o instrucciones pueden proporcionar información con respecto a la dosis diaria máxima permitida de las composiciones como se describe en el presente documento, por ejemplo, basado en una vez al día, dos veces al día o tres veces al día.

Dicha etiqueta o instrucciones pueden proporcionar información sobre la duración sugerida del tratamiento, como se describe en el presente documento.

20 *Inversión y/o inhibición la agregación de una proteína*

25 El uso de un compuesto o composición de MT como se describe en el presente documento puede usarse para regular (por ejemplo, para revertir y/o inhibir) la agregación de una proteína, por ejemplo, agregación de una proteína asociada con una enfermedad neurodegenerativa y/o demencia clínica. La agregación se asociará con un estado de enfermedad como se analiza a continuación.

30 Por lo tanto, la divulgación se refiere a un método para regular (por ejemplo, revertir y/o inhibir) la agregación de una proteína en el cerebro de un mamífero, cuya agregación está asociada con un estado de enfermedad como se describe en el presente documento, comprendiendo el tratamiento la etapa de administrar a dicho mamífero que necesita dicho tratamiento, una cantidad profiláctica o terapéuticamente efectiva de un compuesto o composición MT como se describe en el presente documento, que es un inhibidor de dicha agregación.

Las enfermedades que se pueden tratar mediante la presente invención se analizan con más detalle a continuación.

35 *Trastornos neurodegenerativos de agregación proteica*

40 Los hallazgos descritos en el presente documento tienen implicaciones para la dosificación de compuestos MT en diferentes enfermedades. En particular, adoptar un régimen de dosificación que maximice la proporción de sujetos en los que la concentración de MT superará el umbral de $C_{máx}$, manteniendo, no obstante, una dosis relativamente baja para mantener un perfil clínico deseable, se puede aplicar en el tratamiento o profilaxis de diversas enfermedades de agregación proteica en las que se ha descrito que MT es eficaz.

45 Por lo tanto, en algunas realizaciones, la condición de enfermedad es una enfermedad de agregación de proteínas, y, por ejemplo, el tratamiento es con una cantidad de un compuesto o composición como se describe en el presente documento, suficiente para inhibir la agregación de la proteína asociada con dicha enfermedad.

La siguiente tabla enumera varias proteínas de agregación asociadas a enfermedades y la correspondiente enfermedad neurodegenerativa de agregación de proteínas.

Proteína	Enfermedad	Agregar dominio y/o mutaciones	Tamaño de la subunidad fibrilar (kDa)	Referencia
Proteína priónica	Enfermedades priónicas	<i>Formas hereditarias y esporádicas</i>	27	Prusiner (1998)
	(CJD, nvCJD, Fatal familiar insomnia, Gerstmann-Straussler-Scheinker syndrome, Kuru)	PrP-27-30; muchas mutaciones.	27	Prusiner (1998)

50

(continuación)

Proteína	Enfermedad	Agregar dominio y/o mutaciones	Tamaño de la subunidad fibrilar (kDa)	Referencia
		Dominios fibrillogénicos: 113-120, 178-191, 202-218.		Gasset <i>et al.</i> (1992)
Proteína tau	enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, FTDP-17, DCB, parkinsonismo postencefálico, enfermedad de Pick, parkinsonismo con complejo de demencia de Guam	<i>Formas hereditarias y esporádicas</i>	10-12	Wischik <i>et al.</i> (1988)
		Tau truncado (dominio de unión a tubulina) 297-391.	10-12	Wischik <i>et al.</i> (1988)
		Mutaciones en tau en DFTP-17.		Hutton <i>et al.</i> (1998)
		Muchas mutaciones en las proteínas presenilina.		Czech <i>et al.</i> (2000)
Proteína β amiloide	enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down	<i>Formas hereditarias y esporádicas</i>	4	Glenner y Wong, (1984)
		proteína β amiloide; 1-42(3).	4	Glenner y Wong, (1984)
		Mutaciones en APP en familias raras.		Goate <i>et al.</i> (1991)
Huntingtina	enfermedad de Huntington	extremos N de proteína con repeticiones de glutamina expandida.	40	DiFiglia <i>et al.</i> (1997)
Ataxina)	Ataxias espinocerebelosas (SCA1, 2, 3, 7)	Proteínas con repeticiones de glutamina expandida.		Paulson <i>et al.</i> (1999)
Atrofina	Atrofia alidoluisiana dento-rubrocópica (DRPLA)	Proteínas con repeticiones de glutamina expandida.		Paulson <i>et al.</i> (1999)
Receptor de andrógenos	Atrofia muscular espinal y bulbar	Proteínas con repeticiones de glutamina expandida.		Paulson <i>et al.</i> (1999)
Neuroserpina	Encefalopatía familiar con cuerpos de inclusión neuronal (FENIB)	Neuroserpina; S49P, S52R.	57	Davis <i>et al.</i> (1999)
α -sinucleína	enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia multisistémica	<i>Formas hereditarias y esporádicas</i>	19	Spillantini <i>et al.</i> (1998) también PCT/GB2007/001105
		A53T, A30P en familias con EP rara autosómica dominante.		Polymeropoulos <i>et al.</i> (1997)

(continuación)

Proteína	Enfermedad	Agregar dominio y/o mutaciones	Tamaño de la subunidad fibrilar (kDa)	Referencia
TDP-43	DLFT-TDP	Varias mutaciones de TDP-43	10-43	Mackenzie <i>et al.</i> (2010)
	Esclerosis lateral amiotrófica	Varias mutaciones de TDP-43	10-43	Mackenzie <i>et al.</i> (2010)
Cistatina C	Angiopatía cerebral hereditaria (islandesa)	Cistatina C menos 10 restos; L68Q.	12-13	Abrahamson <i>et al.</i> (1992)
Superóxido dismutasa 1	Esclerosis lateral amiotrófica	Mutaciones de SOD1.	16	Shibata <i>et al.</i> (1996)

Como se describe en el documento WO 02/055720, WO2007/110630 y WO2007/110627, las diaminofenotiazinas tienen utilidad en la inhibición de tales enfermedades de agregación de proteínas.

- 5 Así se apreciará que, excepto cuando el contexto requiera lo contrario, la descripción de realizaciones con respecto a la proteína tau o proteínas similares a tau (por ejemplo, MAP2; véase más adelante), debe tomarse como aplicable igualmente a las otras proteínas tratadas en el presente documento (por ejemplo, TDP-43, β -amiloide, sinucleína, prión, etc.) u otras proteínas que pueden iniciar o sufrir una agregación patológica similar en virtud de un cambio conformacional en un dominio crítico para la propagación de la agregación, o que imparte estabilidad proteolítica al agregado así formado (véase, por ejemplo, el artículo de Wischik *et al.* en "Neurobiology of Alzheimer's Disease", 2.^a edición, 2000, Eds. Dawbarn, D. y Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford). Todas estas proteínas pueden denominarse en el presente documento "proteínas de enfermedades de agregación".
- 10
- 15 De manera análoga, donde se hace mención en el presente documento de "agregación tau-tau", o similar, esto también puede considerarse aplicable a otra "agregación de proteínas agregantes", tales como agregación de β -amiloide, agregación de priones, agregación de sinucleína, etc. Lo mismo se aplica a la "degradación proteolítica de tau", etc.

20 *Proteínas diana de enfermedad agregada preferidas*

Las realizaciones preferidas de la invención se basan en la proteína tau. La expresión "proteína tau", como se usa en el presente documento, se refiere generalmente a cualquier proteína de la familia de proteínas tau. Las proteínas tau se caracterizan por ser una entre un gran número de familias de proteínas que se copurifican con microtúbulos durante ciclos repetidos de ensamblaje y desensamblaje (véase, por ejemplo, Shelanski *et al.*, 1973, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 70, pág. 765-768), y se conocen como proteínas asociadas a microtúbulos (MAP). Los miembros de la familia tau comparten las características comunes de tener un segmento N-terminal característico, secuencias de aproximadamente 50 aminoácidos insertadas en el segmento N-terminal, que están regulados por el desarrollo en el cerebro, una región de repetición en tándem característica que consta de 3 o 4 repeticiones en tándem de 31-32 aminoácidos y una cola C-terminal.

30 MAP2 es la proteína asociada a microtúbulos predominante en el compartimiento somatodendrítico (véase, por ejemplo, Matus, A., en "Microtubules" [Hyams y Lloyd, Eds.] pp. 155-166, John Wiley and Sons, Nueva York, USA). Las isoformas de MAP2 son casi idénticas a la proteína tau en la región de repetición en tándem, pero difieren sustancialmente tanto en la secuencia como en la extensión del dominio N-terminal (véase, por ejemplo, Kindler y Garner, 1994, *Mol. Brain Res.*, Vol. 26, págs. 218-224). No obstante, la agregación en la región de repetición en tándem no es selectiva para el dominio de repetición tau. Por lo tanto, se apreciará que cualquier discusión en el presente documento en relación con la proteína tau o la agregación tau-tau debe tomarse como relacionada también con la agregación tau-MAP2, agregación MAP2-MAP2 y así sucesivamente.

40 En algunas realizaciones, la proteína es proteína tau.

En algunas realizaciones, la proteína es TDP-43.

45 La proteína 43 de unión a ADN TAR (TDP-43) es una proteína de 414 aminoácidos codificada por *TARDBP* en el cromosoma 1p36.2. La proteína está altamente conservada, ampliamente expresada y predominantemente localizada en el núcleo, pero puede desplazarse entre el núcleo y el citoplasma (Mackenzie *et al.* 2010). Está implicado en la transcripción y la regulación del corte y empalme y puede tener funciones en otros procesos, tales como: procesamiento de microARN, apoptosis, división celular, estabilización del ARN mensajero, regulación de la plasticidad neuronal y mantenimiento de la integridad dendrítica. Además, desde 2006 se ha acumulado un cuerpo sustancial de evidencia en apoyo de la hipótesis de ganancia de función tóxica de TDP-43 en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA). TDP-43 es una proteína inherentemente propensa a la agregación y se forman agregados *in vitro* son

ultraestructuralmente similares a los depósitos de TDP-43 que se observan en las neuronas en degeneración de los pacientes con ELA (Johnson et al 2009). Johnson et al (2008) demostraron que cuando TDP-43 se sobreexpresa en un modelo de levadura, solo la forma agregada es tóxica. Varios estudios *in vitro* también han demostrado que los fragmentos C-terminales de TDP-43 son más propensos que el TDP-43 completo a formar agregados citoplasmáticos insolubles que se vuelven ubiquitinados y tóxicos para las células (Arai et al 2010; Igaz et al 2009; Nonaka et al 2009; Zhang et al 2009). Aunque Nonaka et al (2009) sugirieron que estos agregados citoplasmáticos se unen a la proteína endógena de longitud completa y la agotan del núcleo, Zhang et al (2009) encontraron retención de la expresión nuclear normal, lo que sugiere un efecto puramente tóxico para los agregados. Yang et al (2010) han descrito la captura de TDP-43 de longitud completa dentro de agregados de fragmentos C y N-terminales de TDP-43 en neuronas motoras NSC34 en cultivo. El sobrecrecimiento de neuritas, deteriorado como resultado de la presencia de tales fragmentos truncados, podría ser rescatado por la sobreexpresión de la proteína de longitud completa. Aunque el papel del sobrecrecimiento de neuritas *in vivo* no se ha establecido, este modelo apoyaría la sugerencia hecha por Nonaka y sus colegas sobre el papel de la agregación de TDP-43 en la patología de la ELA.

Se ha informado repetidamente que la expresión de TDP-43 mutante en cultivos celulares da como resultado una mayor generación de fragmentos C-terminales, con una agregación citoplasmática y efectos tóxicos aún mayores que la proteína de tipo salvaje (Kabashi et al 2008; Sreedharan et al 2008; Johnson et al 2009; Nonaka et al 2009; Arai et al 2010; Barmada et al 2010; Kabashi et al 2010).

Cuando la proteína es proteína tau, en algunas realizaciones de la presente invención, se proporciona un método para inhibir la producción de agregados de proteínas (por ejemplo, en forma de filamentos helicoidales emparejados (PHF), opcionalmente en ovillos neurofibrilares (NFT) en el cerebro de un mamífero, siendo el tratamiento como se ha descrito anteriormente.

Indicaciones preferidas - Enfermedades de la agregación de proteínas

En una realización, la presente invención se usa para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA), por ejemplo, EA leve, moderada o grave.

En particular, no es solo la enfermedad de Alzheimer (EA) en la que la proteína tau (y la función aberrante o el procesamiento de la misma) puede desempeñar un papel. La patología de trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Pick y la parálisis supranuclear progresiva (PSP) parece correlacionarse con una acumulación de agregados de tau truncados patológicos en el giro dentado y las células piramidales estrelladas de la neocorteza, respectivamente. Otras demencias incluyen demencia frontotemporal (DFT); DFT con parkinsonismo ligada al cromosoma 17 (DFTP-17); complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA); degeneración palido-ponto-nigral (DPPN); síndrome de Guam-ALS; degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL); degeneración corticobasal (DCB) y otros (véase, por ejemplo, el artículo de Wischik *et al.* en "Neurobiology of Alzheimer's Disease", 2.^a edición, 2000, Eds. Dawbarn, D. y Allen, S.J., The Molecular and Cellular Neurobiology Series, Bios Scientific Publishers, Oxford; especialmente la Tabla 5.1). Todas estas enfermedades, que se caracterizan principal o parcialmente por una agregación de tau anormal, se denominan en el presente documento "tauopatías".

Por lo tanto, en algunas realizaciones, la enfermedad es una tauopatía.

En algunas realizaciones, la enfermedad es una tauopatía neurodegenerativa.

La enfermedad se selecciona entre enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva (PSP), complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia (CDDPA), degeneración palido-ponto-nigral (DPPN), síndrome de Guam-ELA, degeneración palido-nigro-luisiana (DPNL), degeneración cortico-basal (DCB), demencia con granos argirofílicos (DAg), demencia pugilística (DP) o encefalopatía traumática crónica (ETC), síndrome de Down (SD), panencefalitis esclerosante subaguda (PEES), enfermedad de Niemann-Pick, tipo C (NPC), Síndrome de Sanfilippo tipo B (mucopolisacaridosis III B), o distrofias miotónicas (DM), DM1 o DM2, o encefalopatía traumática crónica (ETC).

En algunas realizaciones, la enfermedad es un trastorno de almacenamiento lisosomal con patología tau. La NPC es causada por mutaciones en el gen *NPC1*, que afecta al metabolismo del colesterol (Love et al 1995) y el síndrome de Sanfilippo de tipo B es causado por una mutación en el gen *NAGLU*, en el que hay acumulación lisosomal de sulfato de heparina (Omi *et al.* 2009). En estos trastornos de almacenamiento lisosomal, se observa patología tau y su tratamiento puede disminuir la progresión de la enfermedad. Otros trastornos de almacenamiento lisosomal también pueden caracterizarse por la acumulación de tau.

El uso de sales de diaminio de fenotiazina en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson y MCI se describe con más detalle en los documentos PCT/GB2007/001105 y PCT/GB2008/002066.

En algunas realizaciones, la patología es enfermedad de Alzheimer (EA).

En algunas realizaciones, la patología es PSP.

Las proteinopatías TDP-43 incluyen esclerosis lateral amiotrófica (ELA); ELA-TDP) y degeneración lobular frontotemporal (DLFT-TDP).

5 El papel de TDP-43 en la neurodegeneración en la ELA y otros trastornos neurodegenerativos ha sido revisado en varias publicaciones recientes (Chen-Plotkin *et al* 2010; Gendron *et al* 2010; Geser *et al* 2010; Mackenzie *et al* 2010).

10 La ELA es una enfermedad neurodegenerativa, caracterizada por parálisis progresiva y atrofia muscular, como consecuencia de la degeneración de las neuronas motoras superiores e inferiores en la corteza motora primaria, el tronco encefálico y la médula espinal. A veces se denomina enfermedad de la neurona motora (ENM), pero existen otras enfermedades además de la ELA que afectan a las neuronas motoras superiores o inferiores. Un diagnóstico definitivo requiere signos de neurona motora superior e inferior en el bulbar, musculatura de brazos y piernas con clara evidencia de progresión clínica que no puede explicarse por ningún otro proceso patológico (Wijesekera y Leigh 2009).

15 Aunque la mayoría de los casos son ELA-TDP, hay otros casos en los que la proteína patológica difiere de TDP-43. La SOD1 mal plegada es la proteína patológica en las inclusiones positivas para ubiquitina en la ELA con mutaciones SOD1 (Seetharaman *et al* 2009) y en un subconjunto muy pequeño (aproximadamente 3-4 %) de ELA familiar, debido a mutaciones en FUS (fusionado en la proteína del sarcoma), la proteína patológica ubiquitinada es FUS (Vance *et al* 2009; Blair *et al* 2010). FUS, como TDP-43, parece ser importante en el transporte nuclear-citoplasmático, aunque las formas en que la importación nuclear alterada de FUS sigue sin estar clara. Una nueva clasificación molecular de la ELA, adaptado de Mackenzie *et al* (2010), refleja los distintos mecanismos patológicos subyacentes en los diferentes subtipos (véase la Tabla a continuación).

25 Nueva clasificación molecular de ELA (modificado de Mackenzie *et al* 2010). En la mayoría de los casos, TDP-43 es la proteína ubiquitinada patológica que se encuentra en la ELA.

Inclusiones ubiquitina-positivas en ELA			
Proteína de la enfermedad ubiquitinada	TDP-43	FUS	SOD1
Subtipo clínico-patológico	ELA-TDP	ELA-FUS	ALS-SOD1
Genotipo asociado	<i>TARDBP</i>	<i>FUS</i>	<i>SOD1</i>
Frecuencia de casos de ELA	Común	Rara	Rara

30 La esclerosis lateral amiotrófica se reconoce como una entidad nosológica desde hace casi un siglo y medio y se reconoce en ICD-10 y se clasifica como un subtipo de ENM en ICD-10, codeG12.2. También se han acordado diagnósticos clínicos fiables para la ELA, que difieren poco de la descripción original de Charcot, y los criterios neuropatológicos, lo que refleja la patología molecular subyacente.

35 Si bien la ELA se clasifica patológicamente en tres subgrupos, ELA-TDP, ELA-SOD1 y ELA-FUS, las dos últimas afecciones son raras. El estudio más grande hasta la fecha mostró que todos los casos de ELA esporádica tenían patología TDP-43 (Mackenzie *et al* 2007). Solo alrededor del 5 % de la ELA es familiar (Byrne *et al* 2010) y las mutaciones en *SOD1*, las mutaciones más comunes encontradas en FALS, representan entre el 12-23 % de los casos (Andersen *et al* 2006). *SOD1* también puede estar implicado en el 2-7 % de SALS. Las mutaciones en *FUS* parecen ser mucho menos comunes, representando solo alrededor del 3-4 % de FALS (Blair *et al* 2010). Por lo tanto, se puede predecir de forma fiable que un caso clínico de SALS tendrá una patología basada en TDP-43. De manera similar, esto se puede predecir de manera fiable en FALS debido a mutaciones en *TDP-43*, que representan alrededor del 4 % de los casos (Mackenzie *et al* 2010). También se ha notificado ELA con mutaciones en: *VCP*, representando el 1-2 % de FALS (Johnson *et al* 2010), *ANG* (Seilhean *et al.* 2009), y *CHMP2B* (Cox *et al* 2010) que están asociados con la patología positiva para TDP-43. Aunque no se ha encontrado que las mutaciones *SOD1*, *FUS* y *ATXN2* estén asociadas con agregados positivos de TDP-43, sin embargo, se ha informado que TDP-43 está implicado en los procesos patológicos que supuestamente surgen de estas mutaciones (Higashi *et al* 2010; Ling *et al* 2010; Elden *et al* 2010).

50 Por lo tanto, se establece que TDP-43 tiene un papel importante y potencialmente central, en la patogenia de la gran mayoría de los casos de SALS y puede estar implicado en la patogenia de una proporción significativa de FALS. La ELA ahora se considera ampliamente como una proteinopatía TDP-43 (Neumann *et al* 2009) y numerosos estudios *in vitro* e *in vivo* brindan apoyo a la hipótesis de que la ganancia tóxica de función, debido a la agregación de TDP-43 es responsable de al menos parte de la neurotoxicidad en la enfermedad.

55 Los síndromes de DLFT son afecciones neurodegenerativas de inicio insidioso, inexorablemente progresivas, con inicio máximo a finales de la mediana edad. A menudo hay antecedentes familiares positivos de trastornos similares en un familiar de primer grado.

La variante conductual de la DFT se caracteriza por un cambio temprano prominente en la función social e interpersonal, a menudo acompañado de comportamientos repetitivos y cambios en el patrón de alimentación. En la

demencia semántica hay problemas importantes para encontrar palabras, a pesar de que el habla es fluida, con conocimiento de objetos degradado y comprensión deficiente de una sola palabra en la evaluación cognitiva. La afasia progresiva no fluida se presenta con una combinación de problemas motores del habla y deficiencias gramaticales. Las características diagnósticas clínicas centrales para estos tres síndromes DLFT se muestran en la siguiente tabla y los criterios completos en Neary *et al.* (1998).

Perfil clínico y principales características de diagnóstico de síndromes de FTLT

Síndrome de FTLT - Perfil clínico	Funciones de diagnóstico principales
<p>Demencia frontotemporal</p> <p>El cambio de carácter y la conducta social desordenada son las características dominantes inicialmente y durante el curso de la enfermedad. Funciones instrumentales de percepción, habilidades espaciales, praxis y memoria están inalteradas o relativamente bien conservadas.</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Inicio lento y progresión gradual 2. Disminución temprana de la conducta social interpersonal 3. Deterioro temprano en la regulación de la conducta personal 4. Embotamiento afectivo temprano 5. Pérdida temprana de percepción
<p>Demencia semántica</p> <p>El trastorno semántico (comprensión deficiente del significado de las palabras y/o la identidad del objeto) es la característica dominante inicialmente y durante todo el curso de la enfermedad. Otros aspectos de la capacidad intelectual, incluyendo la memoria autobiográfica, están inalterados o relativamente bien conservados.</p>	<p>A) Inicio lento y progresión gradual</p> <p>B) Trastorno del lenguaje caracterizado por</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Habla fluida y vacía progresiva 2. Pérdida del significado de las palabras que se manifiesta por una alteración del nombre y la comprensión 3. Parafasias semánticas y/o 4. <p>Trastorno de percepción caracterizado por</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Prosopagnosia: reconocimiento deficiente de la identidad de rostros familiares y/o 2. Agnosia asociativa: reconocimiento deficiente de la identidad del objeto <p>C) Coincidencia perceptual conservada y reproducción de dibujos</p> <p>D) Repetición conservada de una sola palabra</p> <p>E) Habilidad conservada para leer en voz alta y escribir al dictado palabras ortográficamente regulares</p>
<p>Afasia progresiva no fluida</p> <p>El trastorno del lenguaje expresivo es la característica dominante inicialmente y durante todo el curso de la enfermedad. Otros aspectos de la capacidad intelectual están inalterados o relativamente bien conservados.</p>	<p>A) Inicio lento y progresión gradual</p> <p>B) Habla espontánea no fluida con al menos uno de los siguientes: agramatismo, parafasias fonémicas o anomia</p>

10 El descubrimiento de que las inclusiones positivas para TDP-43 caracterizan ELA y DLFT-TDP (Neumann *et al* 2006) fue seguido rápidamente por la identificación de mutaciones sin sentido en el *TARDBP* gen en casos familiares y esporádicos de ELA (Gitcho *et al* 2008; Sreedharan *et al.*, 2008). Hasta ahora, se han notificado 38 mutaciones *TARDBP* diferentes en 79 familias genealógicamente no relacionadas en todo el mundo (Mackenzie *et al* 2010). Las mutaciones *TARDBP* representan aproximadamente el 4 % de todos los casos familiares y alrededor del 1,5 % de los casos esporádicos de ELA.

Desde diciembre de 2010, se han identificado mutaciones en trece genes que están asociados con la ELA familiar y esporádica. Se ha demostrado la vinculación de ELA con otros cinco loci cromosómicos, pero hasta el momento no se han identificado mutaciones específicas.

Proteinopatías TDP-43

El MT tiene un modo de acción que se dirige y puede reducir la agregación de la proteína TDP-43 en las células, que es una característica patológica de la gran mayoría de las ELA familiares y esporádicas y también es característica de DLFT-P.

Además, los datos de laboratorio muestran que el metiltioninio inhibe la formación de agregados de TDP-43 en las células SH-SY5Y. Después del tratamiento con MT 0,05 µM, el número de agregados de TDP-43 se redujo en un 50 %. Estos hallazgos fueron confirmados mediante análisis de inmunotransferencia (Yamashita *et al* 2009).

Mezclas de compuestos de MT oxidados y reducidos

Los compuestos que contienen LMT utilizados en la presente invención pueden incluir compuestos oxidados (MT⁺) como "impurezas" durante la síntesis, y también pueden oxidarse (por ejemplo, autooxidarse) después de la síntesis para dar las formas oxidadas correspondientes. Por lo tanto, es probable, si no es inevitable, que las composiciones que comprenden los compuestos de la presente invención contendrán, como impureza, al menos algo del correspondiente compuesto oxidado. Por ejemplo, una sal de "LMT" puede incluir hasta un 15 %, por ejemplo de un 10 a un 15 % de sal de MT⁺.

Cuando se utilizan compuestos de MT mixtos, la dosis de MT se puede calcular fácilmente utilizando los factores de peso molecular de los compuestos presentes.

Sales y solvatos

Aunque los compuestos que contienen MT descritos en el presente documento son en sí mismos sales, también se pueden proporcionar en forma de una sal mixta (es decir, el compuesto de la invención en combinación con otra sal). Se pretende que dichas sales mixtas estén abarcadas por la expresión "y sales farmacéuticamente aceptables del mismo". A menos que se especifique lo contrario, una referencia a un compuesto particular también incluye las sales del mismo.

Los compuestos de la invención también se pueden proporcionar en forma de solvato o hidrato. El término "solvato" se usa en el presente documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto, sal del compuesto) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato puede denominarse convenientemente como un hidrato, por ejemplo, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, un pentahidrato, etc. A menos que se especifique lo contrario, cualquier referencia a un compuesto también incluye solvato y cualquier forma hidrato del mismo.

Naturalmente, los solvatos o hidratos de sales de los compuestos también están abarcados por la presente invención.

En toda la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones a continuación, a menos que el contexto requiera otra cosa, la palabra "comprenden", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderá que implica la inclusión de un elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas.

Cabe señalar que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "una", "el" y "la" incluyen las referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de dichos vehículos y similares.

En el presente documento los intervalos se expresan con frecuencia como desde "aproximadamente" un valor particular y/o hasta "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo de este tipo, otra realización incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De manera similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular constituye otra realización.

Todos los subtítulos en el presente documento se incluyen solo por comodidad, y no deben interpretarse como que limitan la divulgación de ninguna manera.

La invención se describirá ahora adicionalmente con referencia a las siguientes figuras y ejemplos no limitantes. Otras realizaciones de la invención se les ocurrirán a los expertos en la materia a la luz de estas.

Figuras

Figura 1. Esquema del modelo farmacocinético poblacional simplificado para MT.

Figura 2a y b. Histograma de estimaciones post-hoc bayesianas de la concentración máxima de MT parental en estado estacionario en pacientes con EA de los estudios 005 y 015 que recibieron LMTM 4 mg dos veces al día o aproximadamente 200 mg/día.

Figura 3a y 3b. Cambio de ADAS-cog durante 65 semanas para una dosis combinada de 8 mg/día como terapia mono o complementaria en sujetos con EA de los estudios 005 y 015 según la C_{máx} en estado estable estimada. Cabe tener en cuenta que el valor p más bajo en "strata.Acmem" se debe a un mayor número de sujetos que recibieron LMTM como tratamiento complementario.

Figura 4. Análisis de sujetos con EA que muestran una reducción de la atrofia cerebral y la expansión ventricular

en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta tanto como monoterapia como complemento.

Figura 5. Estimación de la proporción de sujetos con EA en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta según la dosis. El eje Y muestra el % por encima del umbral. 4 mg BID es el 50 % y refleja la división mediana original de los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja en esta dosis.

Figura 6. Distribución de los valores estimados de $C_{m\acute{a}x}$ para 8 y 200 mg/día en sujetos del ensayo con DFTvc

Figura 7. Diferencia en la disminución de la escala ACE-R según el grupo $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que reciben LMTM 8 mg/día como monoterapia para el tratamiento de DFTvc

Figura 8. Diferencia en la disminución de la escala ACE-R según el grupo $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que reciben LMTM 200 mg/día como monoterapia para el tratamiento de DFTvc

Figura 9. Diferencia en la disminución en la escala de FAQ según el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que reciben LMTM 8 mg/día como monoterapia

Figura 10. Diferencia en la disminución en la escala de FAQ según el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que reciben LMTM 8 mg/día o 200 mg/día como monoterapia

Figura 11a, b y c. Diferencia en VCT, FTV y VVL según el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que reciben LMTM 8 mg/día como monoterapia.

Figura 12. Análisis $E_{m\acute{a}x}$ sigmoideo para la disminución en ADAS-cog₁₁ la semana 65 con covariables modelo en los valores medios de la población e intervalos de confianza de remuestreo del 90 % usando la $C_{m\acute{a}x,ss}$ el día 1 para pacientes con EA y dosis baja de los estudios TRx-237-005 y TRx-237-015.

Figura 13. Relaciones concentración-respuesta para los criterios de valoración volumétricos clínicos y de resonancia magnética para $C_{m\acute{a}x,ss}$ agrupaciones de pacientes con EA que recibieron LMTM en dosis de 8 mg/día

Figura 14. Comparación de los criterios de valoración clínicos primarios y volumétricos de resonancia magnética para todos los pacientes con EA: clasificado por $C_{m\acute{a}x,ss}$ por encima ("alta exposición") o por debajo ("baja exposición") del umbral de MT original de 0,373 ng/ml.

Figura 15. Porcentaje esperado de pacientes con EA por encima del umbral terapéutico crítico para $C_{m\acute{a}x,ss}$ (0,393 ng/ml) y $C_{prom,ss}$ (0,223 ng/ml) según regímenes de dosificación de una vez al día (qd) y dos veces al día (bid).

Figura 16. Comparación del criterio de valoración clínico primario y de la resonancia magnética en pacientes con EA que reciben LMTM, 8 mg/día: clasificado por $C_{m\acute{a}x,ss}$ por encima ("alta exposición") o por debajo ("baja exposición") del umbral de MT parental de 0,373 ng/ml y estado de uso de AChEI y/o memantina.

Figura 17. Respuesta farmacocinética-farmacodinámica en la escala ADAS-cog durante 65 semanas en pacientes con EA que toman LMTM en dosis de 8 mg/día y clasificados por estado de co-medicación con tratamientos marcados con EA.

Figura 18. Relaciones concentración-respuesta para ACE-R, Preguntas frecuentes, FTV, VVL y VCT en pacientes con DFTvc.

Figura 19. Cambio estimado desde el inicio a lo largo del tiempo en los criterios de valoración clínicos y de neuroimagen por resonancia magnética en pacientes con DFTvc que toman 8 mg/día, categorizados por niveles plasmáticos superiores o inferiores al umbral de la $C_{m\acute{a}x,ss}$ de 0,346 ng/ml.

Figura 20. Ajuste de la ecuación de Hill ampliada con el cambio en el volumen cerebral total durante 52 semanas para pacientes con DFTvc.

Ejemplos

Ejemplo 1 - suministro de compuestos que contienen MT

Los métodos para la síntesis química de los compuestos que contienen MT descritos en el presente documento son conocidos en la materia. Por ejemplo:

La síntesis de los compuestos 1 a 7 se puede realizar de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO2012/107706, o métodos análogos a aquellos.

La síntesis del compuesto 8 se puede realizar de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO2007/110627, o un método análogo a aquéllos.

Ejemplo 2: Provisión de tratamientos sintomáticos para EA

5 Los tratamientos sintomáticos para la EA incluyen aquellos que modifican directamente la neurotransmisión sináptica en el cerebro y están disponibles comercialmente como inhibidores de la acetilcolinesterasa (AChEI) o antagonistas del receptor NMDA.

10 Los ejemplos de AChEI incluyen tacrina (Cognex™, First Horizon), donepezilo (Aricept™, Eisai/Pfizer), rivastigmina (Exelon™, Novartis) y galantamina (Razadyne™, anteriormente Reminyl™, Ortho-McNeil). La memantina está disponible como Ebixa™ o Namenda™ por ejemplo de Forest.

Ejemplo 3: Un nuevo modelo farmacocinético poblacional para MT

15 En un modelo inicial (no mostrado), la disposición de todas las fracciones de MT (MT original, desmetil MT y conjugado de LMT) se caracterizaron simultáneamente mediante un modelo multicompartmental. La disposición del MT original después de la administración por vía oral se describió adecuadamente mediante un modelo de dos compartimentos en el que la unión se produce en los compartimentos plasmático y tisular y la absorción retardada se produce a través de dos compartimentos de tránsito. Este modelo tiene un V_c fijo. Se observó una tendencia a que la tasa de absorción fuera más lenta a medida que aumentaba la dosis, que se incorpora al modelo utilizando una constante de tasa de absorción dependiente de la dosis (K_a). El aclaramiento oral aparente (CUF) del MT original se relacionó con la función renal, de modo que una pequeña porción de la variabilidad en el CL parental se describe mediante el aclaramiento de creatinina normalizado (CLCRN). Una fracción menor del MT original se metabolizó en desmetil MT, y la disposición del desmetil MT se describió mediante un modelo de dos compartimentos con eliminación lineal. El MT original también se convirtió en LMT-glucurónido y su disposición se describió mediante un modelo unicompartimental con eliminación lineal. Cabe destacar que una fracción del conjugado de LMT se sometió a reciclaje enterohepático (EHR), que fue imitado fisiológicamente a través de un compartimento de vesícula biliar latente con un patrón pulsátil de secreción biliar.

30 El modelo descrito anteriormente se aplicó a los datos de un estudio de fase 1 de dosis única y dosis múltiples en sujetos de edad avanzada (Estudio 036) para evaluar la capacidad del modelo para predecir la farmacocinética en estado estacionario del MT original. El modelo se ajustó con éxito a los datos obtenidos de sujetos que recibieron 4 mg BID o 10 mg QD de LMTM en el Estudio 036.

35 Esto, el modelo PK se desarrolló aún más y se simplificó hasta convertirse en un modelo de dos compartimentos que se ajusta solo a las concentraciones de MT original. En la Figura 1 se proporciona un esquema de este modelo farmacocinético poblacional simplificado para MT. Este modelo tiene un V_c fijo, pero se elimina la K_a dependiente de la dosis.

40 Este modelo derivó del Estudio 036 analizado anteriormente. La disposición del MT original después de la administración oral de LMTM se describió adecuadamente mediante un modelo de dos compartimentos con una absorción retardada que ocurre a través de dos compartimentos de tránsito. El aclaramiento oral aparente (CUF) del MT original se relacionó con la función renal, de modo que una pequeña porción de la variabilidad en el CL parental se describe mediante el aclaramiento de creatinina normalizado (CLCRN).

El modelo se ajustó con éxito a los datos obtenidos de sujetos que recibieron 4 mg BID o 10 mg QD de LMTM en el Estudio 036.

50 El modelo simplificado proporciona un ajuste similar al modelo anterior más sofisticado, pero permite el co-modelado de todos los datos del Estudio 036.

En general, se obtuvieron excelentes ajustes a los datos de sujetos individuales, lo que sugiere que el modelo proporcionó una descripción adecuada de la farmacocinética del MT parental después de la administración de LMTM.

55 Ejemplo 4: Estimación de la $C_{máx}$ del MT original en los pacientes que recibieron 4 mg dos veces al día en los estudios de fase 3 de EA (estudios "005" y "015").

60 El diseño del ensayo para los estudios de fase 3 de AD "005" y "015" se describe en los Ejemplos 4 y 3 respectivamente del documento WO2018/019823, ejemplos que también analizan esos resultados. La divulgación de dichos Ejemplos se incorpora en el presente documento específicamente como referencia. En resumen, estos ensayos de fase 3 compararon dosis altas de LMTM (150 - 250 mg/día) con una dosis baja (8 mg/día) destinada a enmascarar una posible decoloración de la orina (Gauthier 2016; Wilcock 2018). Estos demostraron la utilidad potencial de LMTM, particularmente como monoterapia, para retrasar la progresión de la enfermedad en los criterios de valoración clínicos y de imágenes cerebrales, y que las dosis altas no conferirían un beneficio potencial mayor que la dosis de 8 mg/día.

65

Luego se utilizó el modelo farmacocinético poblacional para estimar la $C_{m\acute{a}x}$ del MT parental en los pacientes que recibieron 4 mg o una dosis alta (aproximadamente 200 mg/día) en estos estudios de fase 3 de EA. Este proceso bayesiano implicó fijar la media poblacional y los parámetros de variabilidad interindividual a las estimaciones del ajuste del modelo farmacocinético poblacional a los datos de estado estable del Estudio 036 y permitir que el programa seleccionara un conjunto de parámetros, dados las prioridades bayesianas, que predice mejor las concentraciones de MT original desde el día 1 en cada individuo.

La distribución de las estimaciones de $C_{m\acute{a}x}$ resultantes se proporcionan en las Figuras 2a y 2b. El grupo de ~200 mg/día representa a los sujetos de dosis alta agrupados del Estudio 015 (150 y 250 mg/día) y el Estudio 005 (200 mg/día).

En estas figuras, la línea negra vertical indica la mediana de cada distribución, que se puede utilizar para dividir a los pacientes en grupos de $C_{m\acute{a}x}$ baja y alta.

Ejemplo 5: Evaluación de diferentes efectos de una dosis combinada de 8 mg/día como terapia única o complementaria de los estudios 005 y 015 en grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja en estado estacionario

Utilizando un enfoque de medición repetida del modelo de efectos mixtos (MMRM), luego se calculó el cambio de ADAS-cog durante 65 semanas para la dosis combinada de 8 mg/día como terapia única o complementaria de los estudios 005 y 015 para los grupos " $C_{m\acute{a}x}$ alta" y " $C_{m\acute{a}x}$ baja", en cada caso divididos en aquellos que recibieron LMTM como monoterapia, o en combinación ("complementaria") con tratamientos sintomáticos (AChEI y/o memantina). Los resultados se muestran en las Figuras 3a y 3b que muestran los mismos datos. Los pacientes que utilizan tratamientos sintomáticos se etiquetan como "Achmem".

La figura 3a enfatiza los hallazgos del documento WO2018/019823 de que los tratamientos sintomáticos interfieren con el efecto del tratamiento LMTM. La diferencia media entre la monoterapia y el tratamiento complementario puede observarse como ~ 4 unidades ADAS-cog.

Como se destaca en la Figura 3b, inesperadamente, el análisis de esta dosis baja (8 mg/día) también reveló una diferencia entre los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja para la monoterapia de ~2,4 unidades ADAS-cog y una diferencia entre los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja para los grupos complementarios de ~2,7 unidades ADAS-cog, es decir, la misma diferencia dependiente de la concentración observada para la monoterapia y el tratamiento complementario.

En análisis posteriores, la figura 4 muestra que el grupo con $C_{m\acute{a}x}$ alta tiene menos atrofia del cerebro entero y del lóbulo temporal, y menos expansión de los ventrículos tanto como monoterapia como terapia complementaria. Como se esperaba, hubo menos atrofia cerebral en los grupos de monoterapia que en los grupos de tratamiento complementario. Cabe señalar que las diferencias alcanzan significación estadística solo para el grupo complementario, que tenía un número sustancialmente mayor de sujetos.

El análisis correspondiente del grupo de dosis alta agrupado (promedio de 200 mg/día) no mostró un efecto de tratamiento diferente correspondiente entre los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja, ya sea como monoterapia o como complemento (datos no mostrados).

Ejemplo 6: Seguridad y acontecimientos adversos: beneficios de utilizar una dosis mínima efectiva de compuestos LMT

Se han completado estudios controlados, doble ciego de tres fases de LMTM (uno en sujetos con EA leve y de leve a moderada y uno en sujetos con DFTvc). Se han publicado los resultados de los estudios de EA (Gauthier *et al.*, 2016; Wilcock *et al.*, 2018).

En estos tres estudios, 1897 sujetos recibieron al menos una dosis de LMTM (Población de seguridad [Cinco sujetos adicionales con EA, que participaron en un centro en el estudio TRx-237-005, recibieron una dosis del fármaco en estudio pero fueron excluidos de todos los análisis debido a violaciones de las BPC], 1679 sujetos con EA y 218 sujetos con DFTvc). De estos, 860 sujetos recibieron el control (LMTM 8 mg/día, 750 con EA y 110 con DFTvc) y 1037 sujetos recibieron al menos una dosis de LMTM en las dosis más altas de 150 a 250 mg/día (929 con EA y 108 con DFTvc).

La media de edad de los participantes del estudio fue de 71 años (hasta 89 años) para los sujetos con EA y de 63 años (hasta 79 años) para los sujetos con DFTvc. En general, hubo una representación comparable por sexo (55 % mujeres), siendo más sujetos con EA mujeres (58 %) y más sujetos con DFTvc varones (63 %). La mayoría de los sujetos eran blancos (88 % con EA y 91 % con DFTvc). Aproximadamente el 17 % de los sujetos con EA recibieron LMTM como monoterapia (como se registró en el cuaderno de recogida de datos de medicación concomitante en lugar de por estratificación [en general, el 87 % de los sujetos estaban recibiendo AChEI y/o memantina según la aleatorización estratificada]), y el resto recibió AChEI y/o memantina de forma concomitante. Por otra parte, la mayoría de los sujetos con DFTvc recibieron LMTM como monoterapia (79 %). Los trastornos/síntomas psiquiátricos eran comunes, con depresión notificada en el 23 % de los sujetos en general y ansiedad en el 12 %. El uso concomitante de antidepresivos y antipsicóticos fue más común en sujetos con DFTvc (50 % y 22 %, respectivamente) en

comparación con EA (36 % y 10 %, respectivamente).

Los acontecimientos adversos emergentes durante el tratamiento (AAET) más comunes considerados al menos posiblemente asociados con LMTM administrado en una dosis de 8 mg/día son gastrointestinales (principalmente diarrea y náuseas), genitourinarios (principalmente polaquiuria e incontinencia urinaria), hematológicos (anemia, disminución de folato y deficiencia de folato) y relacionados con el sistema nervioso (principalmente fatiga, mareos, cefalea, agitación e insomnio). Se considera que otros acontecimientos comunes representan acontecimientos que se esperan en estas poblaciones de pacientes durante un periodo de 12 a 18 meses.

A las dosis más altas de LMTM estudiadas, 150 a 250 mg/día, hubo un aumento relacionado con la dosis en la incidencia de acontecimientos adversos relacionados con la anemia (disminución de la hemoglobina además de anemia, disminución del folato y deficiencia de folato), acontecimientos gastrointestinales (incluidos vómitos y la posible observación asociada de disminución de peso además de diarrea y náuseas) y acontecimientos genitourinarios (incluida disuria, urgencia miccional e infecciones evidentes del tracto urinario además de polaquiuria e incontinencia urinaria). La falta de una relación dosis-respuesta en las caídas y en los acontecimientos del sistema nervioso/psiquiátrico (excepto la agitación) sugiere que estos están asociados con la afección subyacente de los sujetos más que con el tratamiento.

La incidencia de los AAET más comunes se resume por dosis en la siguiente Tabla EJ1. Esto incluye AAET que ocurrieron con una incidencia de $\geq 2,0$ % en sujetos asignados aleatoriamente a LMTM 8 mg/día o dosis más altas (DE 150 a 250 mg/día). También se incluye el subconjunto de AAET que fueron graves en intensidad. Como puede observarse, ocurrieron pocos acontecimientos de intensidad grave, independientemente de la dosis.

Tabla EJ1: Incidencia de acontecimientos adversos emergentes durante el tratamiento en $\geq 2,0$ % de los sujetos por dosis:

LMTM 8 mg/día frente a Dosis más altas (Población de seguridad agrupada, LMTM, fase 3, doble ciego)				
Clasificación de órganos del sistema MedDRA/Término preferente	LMTM 8 mg/día (N=860)		Dosis más altas (150-250 mg/día) (N=1037)	
	Todos n (%)	Intensidad grave n (%)	Todos n (%)	Intensidad grave n (%)
Número (%) de sujetos que informaron al menos un AAET	720 (83,7 %)	86 (10,0 %)	902 (87,0 %)	126 (12,2 %)
Trastornos de la sangre y del sistema linfático				
Anemia	19 (2,2 %)	1 (0,1 %)	59 (5,7 %)	0
Trastornos cardíacos				
Fibrilación auricular	17 (2,0 %)	3 (0,3 %)	10 (1,0 %)	2 (0,2 %)
Trastornos gastrointestinales				
Dolor abdominal	16 (1,9 %)	1 (0,1 %)	30 (2,9 %)	1 (0,1 %)
Dolor abdominal superior	10 (1,2 %)	1 (0,1 %)	21 (2,0 %)	0
Estreñimiento	23 (2,7 %)	2 (0,2 %)	24 (2,3 %)	1 (0,1 %)
Diarrea	109 (12,7 %)	5 (0,6 %)	278 (26,8 %)	14 (1,4 %)
Náuseas	39 (4,5 %)	1 (0,1 %)	86 (8,3 %)	1 (0,1 %)
Vómitos	20 (2,3 %)	0	80 (7,7 %)	3 (0,3 %)
Trastornos generales y alteraciones en el lugar de administración				
Cansancio	26 (3,0 %)	0	38 (3,7 %)	1 (0,1 %)
Edema periférico	19 (2,2 %)	0	20 (1,9 %)	0
Infecciones e infestaciones				
Bronquitis	27 (3,1 %)	0	19 (1,8 %)	0
Nasofaringitis	40 (4,7 %)	0	43 (4,1 %)	0
Infecciones de las vías respiratorias altas	35 (4,1 %)	0	34 (3,3 %)	0
Infección del tracto urinario	76 (8,8 %)	1 (0,1 %)	116 (11,2 %)	3 (0,3 %)

(continuación)

Lesión, envenenamiento y complicaciones relacionadas con los procedimientos				
Contusión	24 (2,8 %)	0	15 (1,4 %)	0
Caída	90 (10,5 %)	4 (0,5 %)	78 (7,5 %)	7 (0,7 %)
Laceración	17 (2,0 %)	0	14 (1,4 %)	1 (0,1 %)
Exploraciones complementarias				
Creatina fosfoquinasa en sangre aumentada	18 (2,1 %)	0	31 (3,0 %)	0
Disminución de folato en sangre	45 (5,2 %)	0	76 (7,3 %)	0
Aclaramiento renal de creatinina disminuido	20 (2,3 %)	0	26 (2,5 %)	0
Hemoglobina disminuida	6 (0,7 %)	0	34 (3,3 %)	0
Disminución de la vitamina B ₁₂	23 (2,7 %)	0	21 (2,0 %)	0
Disminución de peso	18 (2,1 %)	0	39 (3,8 %)	0
Trastornos del metabolismo y de la nutrición				
Apetito disminuido	13 (1,5 %)	0	39 (3,8 %)	1 (0,1 %)
Deshidratación	17 (2,0 %)	4 (0,5 %)	18 (1,7 %)	2 (0,2 %)
Deficiencia de folato	17 (2,0 %)	0	45 (4,3 %)	0
Trastornos musculoesqueléticos y del tejido conjuntivo				
Artralgia	28 (3,3 %)	0	31 (3,0 %)	1 (0,1 %)
Dolor de espalda	31 (3,6 %)	1 (0,1 %)	44 (4,2 %)	2 (0,2 %)
Dolor en extremidad	19 (2,2 %)	1 (0,1 %)	17 (1,6 %)	0
Trastornos del sistema nervioso				
Microhemorragia cerebral	24 (2,8 %)	0	16 (1,5 %)	0
Mareo	49 (5,7 %)	3 (0,3 %)	64 (6,2 %)	2 (0,2 %)
Cefalea	55 (6,4 %)	1 (0,1 %)	61 (5,9 %)	3 (0,3 %)
Síncope	26 (3,0 %)	1 (0,1 %)	28 (2,7 %)	5 (0,5 %)
Temblor	20 (2,3 %)	0	13 (1,3 %)	0
Trastornos psiquiátricos				
Agitación	46 (5,3 %)	1 (0,1 %)	61 (5,9 %)	7 (0,7 %)
Ansiedad	52 (6,0 %)	0	39 (3,8 %)	2 (0,2 %)
Estado de confusión	22 (2,6 %)	2 (0,2 %)	45 (4,3 %)	2 (0,2 %)
Depresión	41 (4,8 %)	0	37 (3,6 %)	2 (0,2 %)
Alucinaciones	13 (1,5 %)	0	21 (2,0 %)	4 (0,4 %)
Insomnio	29 (3,4 %)	0	32 (3,1 %)	0
Ideación suicida	27 (3,1 %)	2 (0,2 %)	30 (2,9 %)	0
Trastornos renales y urinarios				
Disuria	6 (0,7 %)	0	75 (7,2 %)	1 (0,1 %)
Urgencia miccional	11 (1,3 %)	0	35 (3,4 %)	0
Polaquiuria	19 (2,2 %)	0	71 (6,8 %)	2 (0,2 %)
Incontinencia urinaria	34 (4,0 %)	0	63 (6,1 %)	1 (0,1 %)
Trastornos respiratorios, torácicos y mediastínicos				
Tos	37 (4,3 %)	0	42 (4,1 %)	0
Trastornos de la piel y del tejido subcutáneo				
Erupción	21 (2,4 %)	0	30 (2,9 %)	0

(continuación)

Trastornos vasculares				
Hipertensión	20 (2,3 %)	0	22 (2,1 %)	1 (0,1 %)

5 Los AAET se analizan más a fondo utilizando agrupaciones de términos preferentes de MedDRA (Diccionario médico para actividades regulatorias) relacionados para estimar mejor la incidencia de acontecimientos adversos potencialmente relacionados con el tratamiento. La incidencia de todas las agrupaciones para sujetos categorizados por dosis (8 mg/día frente a dosis más altas (de 150 a 250 mg/día) se muestran en la siguiente Tabla EJ2:

Tabla EJ2: Incidencia de acontecimientos adversos emergentes durante el tratamiento agrupados MTM 8 mg/día frente a dosis más altas

(Población de seguridad agrupada LMTM, fase 3, doble ciego)		
Término de agrupación TauRx	LMTM 8 mg/día (N=860) n (%)	Dosis más altas (150- 250 mg/día) (N=1037) n (%)
Síntomas afectivos/de ansiedad	60 (7,0 %)	55 (5,3 %)
Anemia	111 (12,9 %)	219 (21,1 %)
Síntomas conductuales	114 (13,3 %)	118 (11,4 %)
Caídas y términos relacionados	188 (21,9 %)	202 (19,5 %)
Deterioro de la función hepática	13 (1,5 %)	34 (3,3 %)
Hipersensibilidad	42 (4,9 %)	63 (6,1 %)
Acontecimientos isquémicos, Incluye infarto de miocardio	20 (2,3 %)	35 (3,4 %)
Síntomas psicóticos	28 (3,3 %)	34 (3,3 %)
Deterioro de la función renal	29 (3,4 %)	42 (4,1 %)
Trastornos renales y urinarios (incluidas infecciones)	135 (15,7 %)	326 (31,4 %)
Trastornos del sueño	41 (4,8 %)	48 (4,6 %)
Acontecimientos gastrointestinales específicos	183 (21,3 %)	401 (38,7 %)

10 **Las agrupaciones que ocurren en $\geq 10,0$ % de los sujetos tratados con LMTM 8 mg/día incluyen caídas y términos relacionados (22 %), acontecimientos GI (21 %), trastornos renales y urinarios, incluidas infecciones (16 %), síntomas y términos conductuales indicativos de anemia (cada grupo en un 13 %).**

15 Existe una tendencia relacionada con la dosis hacia una mayor incidencia de todos ellos (excepto las caídas y los síntomas conductuales). Para las agrupaciones menos comunes, también hay evidencia de una tendencia relacionada con la dosis hacia el deterioro de la función hepática.

20 El hecho de que varios AAET parezcan estar relacionados con la dosis indica claramente la conveniencia de utilizar una dosis mínima efectiva de MT.

Ejemplo 7 - Efecto de la $C_{m\acute{a}x}$ sobre los efectos del tratamiento utilizando otras escalas

25 De los datos disponibles, no se observó el efecto de $C_{m\acute{a}x}$ al evaluar la disminución del lóbulo temporal mediante FDG-PET. Para esta medida, pareció que la dosis alta de LMTM (agrupada de 200 mg/día) en realidad atenuó el beneficio observado de otra manera para la monoterapia con LMTM, aunque se mantuvo cierto beneficio de la monoterapia (resultados no mostrados).

30 De los datos disponibles, no se observó el efecto de $C_{m\acute{a}x}$ al evaluar las medidas de resultado: Estudio cooperativo sobre la enfermedad de Alzheimer. Disminución de las actividades de la vida diaria (ADCS-ADL).

Ejemplo 8: Proporcionar un régimen de dosificación optimizado en poblaciones de sujetos con EA

35 En resumen, se ha desarrollado un modelo farmacocinético basándose en datos de estudios de fase 1 con muestras seleccionadas cuidadosamente. A partir de este estado estable por sujeto, se calculó la $C_{m\acute{a}x}$ y se utilizó para dividir a los pacientes que tomaban una dosis de 8 mg/día en grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta (por encima de la mediana) y baja (por debajo de la mediana). De manera inesperada, los grupos con $C_{m\acute{a}x}$ alta y baja diferían en el deterioro cognitivo (evaluado mediante ADAS-cog) en $\sim 2,5$ unidades, observándose el efecto tanto en los grupos de monoterapia como en los de tratamiento complementario. Curiosamente, hubo evidencia de una relación dosis-respuesta inversa para la FDG-PET en dosis altas.

Por tanto, la respuesta al tratamiento está determinada por dos factores:

- 1 Estado de monoterapia frente a tratamiento complementario

2 Concentración plasmática, que variará en las poblaciones de sujetos incluso para una dosis dada.

Por lo tanto, para ambos grupos (monoterapia y terapia complementaria) existe un beneficio en una dosificación en un nivel suficiente para maximizar la proporción de sujetos en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta (evitando al mismo tiempo dosis altas que tienen un perfil clínico menos deseable). La figura 5 estima la proporción de sujetos que se espera que estén en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta según la dosis.

A modo ilustrativo:

A 4 mg dos veces al día, el 50 % de sujetos por encima del umbral de $C_{m\acute{a}x}$, con un efecto de tratamiento previsto en relación con el placebo: 5 unidades ADAS-cog durante 65 semanas

Utilizando al menos 16 mg dos veces al día, o más preferentemente - 20 mg/día (10 mg dos veces al día), para el cual la proporción estimada es del -100 %, es posible que se observen efectos aún mayores del tratamiento ADAS-cog.

Por lo tanto, basado en la Figura 5, es deseable un régimen de dosificación superior a 4 mg dos veces al día. Sin embargo, es probable que haya poco beneficio en exceder los 20 mg dos veces al día (40 mg en total), ya que a ese nivel se estima que la gran mayoría de los sujetos tratados estarán en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta independientemente de si se divide la dosis.

Hay al menos dos razones distintas para querer utilizar la concentración mínima que maximiza el efecto del tratamiento sobre el beneficio cognitivo. En primer lugar, los AAET, más notablemente los acontecimientos GI, trastornos renales y urinarios, incluidas infecciones y anemia hemolítica, se produjeron de forma relacionada con la dosis. Por lo tanto, es claramente deseable evitar dosis más altas de las necesarias para mantener un perfil clínico óptimo. En segundo lugar, hay evidencia de una relación dosis-respuesta inversa para la FDG-PET a dosis altas, es decir, que el beneficio en realidad puede atenuarse en dosis altas.

En general, estos nuevos hallazgos indican que existe un beneficio en el uso de dosis "bajas" ligeramente más altas

Los tratamientos con LMT son más efectivos de lo que se había supuesto anteriormente y además indican que los tratamientos con LMT se pueden utilizar como complemento a los tratamientos sintomáticos (aunque con menos efecto que la monoterapia).

Ejemplo 9: Proporcionar un régimen de dosificación optimizado en poblaciones de sujetos con DFTvc (no de acuerdo con la invención reivindicada)

El diseño del ensayo para el ensayo de fase 3 de LMTM en la demencia frontotemporal, variante conductual, (DFTvc) se describe en los Ejemplos 3 a 10 del documento WO2018/041739, ejemplos que también analizan esos resultados.

En el documento WO2018/041739 se concluyó que se observó un menor deterioro cognitivo (evaluado utilizando ACE-R) con dosis de 4 mg dos veces al día y 100 mg dos veces al día de lo que se habría predicho a partir de estudios históricos. Esto podría explicarse si *ambas* dosis, 4 mg dos veces al día (el brazo "de control") y 100 mg dos veces al día (el brazo "activo") demostraran eficacia.

Además se encontró que el estado y la intensidad de la medicación conjunta para EA eran covariables significativas. Teniendo en cuenta estas covariables mostraron beneficios significativos en el ACE-R en pacientes que toman LMTM en combinación con tratamientos para la EA no aprobados (inhibidores de la acetilcolinesterasa y/o memantina) frente a LMTM solo. También parecía haber beneficios de apoyo direccional en FAQ, MMSE y volumen temporal.

El modelo farmacocinético poblacional descrito anteriormente se utilizó para estimar la $C_{m\acute{a}x}$ del MT original en los pacientes del estudio con DFTvc. Al igual que con los ensayos con EA descritos anteriormente, la mediana del valor de cada dosis se tomó como umbral para dividir a los pacientes en grupos de " $C_{m\acute{a}x}$ alta" y " $C_{m\acute{a}x}$ baja".

La figura 6 muestra la distribución de los valores de $C_{m\acute{a}x}$ en DFTvc. La línea negra vertical indica la mediana que divide los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ baja de alta.

La figura 7 muestra la diferencia en el deterioro en la escala revisada del examen cognitivo de Addenbrooke (ACE-R) según el grupo $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que recibieron LMTM 8 mg/día como monoterapia. Se encontró que la disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja fue de $-13,3 \pm 1,8$ (lo que es comparable a Kipps *et al.*, (2008) $= -15,3 \pm 1,4$). Sin embargo, la disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta fue mucho menor ($-6,1 \pm 1,8$). Todos los análisis de eficacia se basan en un enfoque MMRM

La diferencia entre los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ baja y alta a las 32 semanas fue de $4,2 \pm 2,0$ ($p = 0,0389$) y a las 52 semanas de $7,3 \pm 2,6$ ($p = 0,0059$).

Como se ilustra en la Figura 8, diferencia altamente significativa entre los grupos de $C_{m\acute{a}x}$ alta/baja para 8 mg/día. En realidad, para 200 mg/día pareció haber una relación dosis-respuesta inversa.

5 La figura 9 muestra la diferencia en la disminución en la escala del Cuestionario de Actividades Funcionales (FAQ) según el grupo $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que recibieron LMTM 8 mg/día como monoterapia. Nuevamente, la disminución fue menor en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta en esta escala (disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja a las 52 semanas: $8,3 \pm 0,9$; disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta a las 52 semanas: $2,9 \pm 0,9$; diferencia a las 32 semanas: $-3,6 \pm 1,2$ ($p = 0,0022$); diferencia a las 52 semanas: $-5,4 \pm 1,3$ ($p < 0,0001$)).

10 La Figura 10 ilustra que el beneficio de FAQ observado para una $C_{m\acute{a}x}$ alta a 8 mg/día se reduce considerablemente a 200 mg/día. Además, existe una dosis-respuesta inversa, de modo que el beneficio general se reduce con 200 mg/día.

15 Las figuras 11a, 11b y 11c muestran los cambios correspondientes en el volumen cerebral total (VCT), atrofia temporal y volumen ventricular lateral (VVL) en pacientes con DFTvc.

20 Para el VCT en la Figura 11a, la disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja a las 52 semanas fue de $-24,5 \pm 2,6$ (cm^3). La disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta a las 52 semanas fue de $-15,3 \pm 2,5$. La diferencia a las 52 semanas fue de $9,2 \pm 3,5$ ($p = 0,0089$).

25 La figura 11b muestra la diferencia en la progresión de la atrofia frontotemporal según el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes con DFTvc que recibieron LMTM 8 mg/día como monoterapia (disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja a las 52 semanas: $-2,3 \pm 0,2$ (cm^3); disminución en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta a las 52 semanas: $-1,7 \pm 0,2$; diferencia a las 52 semanas: $0,6 \pm 0,3$ ($p = 0,0247$)).

Figura 11c diferencia en la expansión ventricular según el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ en pacientes que recibieron LMTM 8 mg/día como mono (aumento en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja a las 52 semanas: $8,3 \pm 0,8$ (cm^3); aumento en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ alta a las 52 semanas: $5,0 \pm 0,8$; diferencia a las 52 semanas: $-3,3 \pm 1,1$ ($p = 0,0027$)).

30 Curiosamente, en ACE-R, hubo nuevamente una dosis-respuesta inversa para dosis altas, 200 mg/día.

35 Como se concluyó en el documento WO2018/041739, este análisis adicional confirmó un beneficio adicional de la combinación con tratamientos sintomáticos, con una terapia triple (MT, inhibidores de la acetilcolinesterasa y memantina) que potencialmente ofrece beneficios. Para la terapia combinada no se pudo confirmar el beneficio de superar la $C_{m\acute{a}x}$ (en relación con ACE-R y FAQ), teniendo en cuenta los grupos más pequeños y, por tanto, las barras de error más grandes en las estimaciones (datos no mostrados). Además, los mismos datos indicaron que la adición de tratamientos sintomáticos supera el deterioro causado por dosis altas (respuesta a la dosis inversa), al menos en relación con estas escalas (datos no mostrados). Los beneficios volumétricos significativos de la resonancia magnética para $C_{m\acute{a}x}$ se observaron mejor como terapia complementaria (datos no mostrados).

40 Estos resultados confirmaron la relación concentración-respuesta de la monoterapia con 8 mg/día para la función cognitiva en la DFTvc, similar a la observada en la EA. También hubo una relación concentración-respuesta para la monoterapia de 8 mg/día en la escala funcional de FAQ en DFTvc y una relación dosis-respuesta inversa para la monoterapia de dosis alta (es decir, 200 mg/día fue peor que 8 mg/día).

45 En general, una dosis baja administrada en un régimen que garantice una $C_{m\acute{a}x}$ alta (por ejemplo, ~20 mg/día (10 mg dos veces al día)) parece ser un tratamiento de monoterapia óptimo para la DFTvc.

50 Sin embargo, como se ha visto anteriormente, y en contraste con la EA, existe un beneficio adicional en la combinación con tratamientos sintomáticos, lo cual se puede observar particularmente en el grupo de $C_{m\acute{a}x}$ baja.

A la luz de estos factores, un régimen puede comenzar con monoterapia con LMTX a 8 mg/día y luego aumentar la dosis a ~ 20 mg/día, con la posibilidad de añadir tratamientos sintomáticos de EA en DFTvc a medida que progresa la enfermedad.

55 Ejemplo 10: Análisis adicionales en relación con el régimen de dosificación optimizado en poblaciones de sujetos con EA

60 Un enfoque más informativo que permite realizar análisis estadísticos es categorizar a los pacientes que reciben LMTM en una dosis de 8 mg/día sobre la base de $C_{m\acute{a}x,ss}$ utilizando un umbral que define el límite superior del 35 % más bajo de pacientes, correspondiente al 35 % de pacientes con niveles plasmáticos por debajo del límite de cuantificación validado (0,2 - 10 ng/ml; N = 208) después de la primera dosis del día 1. Ese umbral fue $< 0,373$ ng/ml.

65 El 65 % restante se clasificó en tres grupos de $C_{m\acute{a}x,ss}$ de tamaño comparable (N ~ 128 por grupo) para permitir una mejor visualización de la relación concentración-respuesta. Las dosis más altas se agruparon según la dosis (N = 187-329 por grupo). Las estimaciones basadas en modelos de la exposición al plasma en estos grupos, además de las

dosis más altas, se muestran en la tabla EJ3 a continuación:

Tabla EJ3: $C_{\text{máx,ss}}$ de MT original modelado en plasma para todos los pacientes con datos plasmáticos disponibles en los estudios TRx-237-015 y TRx-237-005 según los subgrupos de $C_{\text{máx,ss}}$ en plasma (LMTM, 8 mg/día) o dosis (LMTM, 150 - 250 mg/día):

5

Grupos de dosis	n (%)	$C_{\text{máx,ee}}$ (ng/ml)	
		Media (SD)	Intervalo
8 mg/día - Grupo 1	208 (35 %)	0,334 (0,0251)	0,257-0,373
8 mg/día - Grupo 2	127 (21 %)	0,393 (0,0125)	0,373-0,414
8 mg/día - Grupo 3	129 (22 %)	0,449 (0,0189)	0,415-0,478
8 mg/día - Grupo 4	128 (22 %)	0,565 (0,0810)	0,479-0,812
150 mg/día	188 (100 %)	7,820 (1,787)	5,099-18,611
200 mg/día	329 (100 %)	10,126 (2,374)	6,557-21,291
250 mg/día	187 (100 %)	12,573 (2,460)	8,833-21,188

10

Estimaciones de la media de mínimos cuadrados y del error estándar para el cambio en ADAS-cog¹¹, ADCS-ADL²³, VVL y VCT muestran respuestas de concentración claras en función de agrupamiento $C_{\text{máx,ss}}$ en pacientes que recibieron LMTM en dosis de 8 mg/día (Figura 13). Existe una tendencia general a que los resultados sean peores en los niveles altos de exposición asociados con dosis en el intervalo de 150 a 250 mg/día, lo que implica la existencia de una dosis-respuesta bifásica.

15

Ejemplo 11 - Análisis basados en el umbral terapéutico crítico de $C_{\text{máx,ss}}$ de 0,393 ng/ml en relación con el régimen de dosificación optimizado en poblaciones de sujetos con EA.

Basado en la división de pacientes según el umbral de 0,373 ng/ml, la diferencia de tratamiento en pacientes que reciben la dosis de 8 mg/día es de -3,4 unidades ADAS-cog (véase la Tabla EJ4 a continuación; véase el Ejemplo 8 sobre la división mediana que muestra aproximadamente entre 2 y 3 unidades ADAS-cog):

Tabla EJ4:

	A. Todos los pacientes divididos por $C_{\text{med,ss}} 0,373 \text{ ng/ml}$				B. Pacientes que reciben LMTM, 8 mg/día, dividido por $C_{\text{max,ss}} 0,373 \text{ ng/ml}$			
	Diferencia \pm SEM	IC	Valor de p	N_{alto}	Diferencia \pm SEM	IC	valor de p	N_{alto}
ADAS-cog	-2,99 \pm 0,67	-4,32 - -1,67	<0,0001	193	-3,41 \pm 0,76	-4,89 - -1,92	<0,0001	193
ADCS-ADL	0,54 \pm 0,94	-1,30 - 2,38	0,5634	192	1,22 \pm 1,01	-0,77 - 3,21	0,2283	192
VWL (cm ²)	-1,52 \pm 0,34	-2,18 - -0,83	<0,0001	184	-1,78 \pm 0,38	-2,53 - -1,03	<0,0001	184
VCT (cm ²)	3,55 \pm 1,06	1,48 - 5,62	0,0008	180	4,39 \pm 1,18	2,07-6,71	0,0002	180

Las trayectorias longitudinales correspondientes a lo largo de 65 semanas según la $C_{m\acute{a}x,ss}$ por encima o por debajo del valor umbral de 0,373 ng/ml se muestran en la figura 14.

5 Dado que sólo el 65 % de los pacientes que reciben 8 mg/día tienen concentraciones plasmáticas superiores al umbral requerido para un beneficio significativo del tratamiento, es deseable determinar la dosis mínima con la que se
 10 esperaría que el 100 % de los pacientes tuvieran niveles plasmáticos dentro del intervalo terapéutico. Dada la variabilidad poblacional observada en el gran conjunto de datos disponibles, fue posible estimar el porcentaje esperado de pacientes por encima del umbral terapéutico crítico para $C_{m\acute{a}x,ss}$ (0,393 ng/ml) y $C_{prom,ss}$ (0,223 ng/ml) según regímenes de dosificación de una vez al día (QD) y dos veces al día (BID). Como puede observarse en la Figura 15, utilizando cualquiera de criterios y régimen de dosificación, LMTM debe administrarse en una dosis de *al menos* 16 mg/día para que el 100 % de los pacientes tengan niveles plasmáticos en el intervalo terapéutico.

Ejemplo 12: Incorporación de un discriminador entre monoterapia y terapia complementaria

15 Otra consideración adicional es si a los pacientes se les administra LMTM solo o en combinación con tratamientos aprobados para la EA (AChEI y/o memantina). Los pacientes que recibieron la dosis de 8 mg/día fueron examinados más a fondo según el estado de co-medicación con estos fármacos. Como se puede ver en la tabla EJ5 siguiente, las diferencias entre pacientes que tienen niveles plasmáticos en estado estacionario por debajo o por encima de un
 20 umbral de 0,373 ng/ml alcanzan significación estadística independientemente de si LMTM se toma como monoterapia o como terapia complementaria en los criterios de valoración cognitivos (ADAS-cog) y de atrofia cerebral (VVL y VCT).

Tabla EJ5: Comparación de pacientes con EA que recibieron LMTM, 8 mg/día, con $C_{m\acute{a}x,ss}$ por encima o por debajo del umbral de MT original de 0,373 ng/ml: clasificados según el estado de uso de AChEI y/o memantina al inicio del estudio.

	LMTM, 8 mg/día, como monoterapia					LMTM, 8 mg/día, como terapia complementaria				
	Diferencia ± SEM	IC	valor de p	N _{bajo}	N _{alto}	Diferencia ± SEM	IC	valor de p	N _{bajo}	N _{alto}
ADAS-cog ₁₁	-2,60 ± 1,16	-4,88 - -0,33	0,0251	33	67	-3,52 ± 0,78	-5,05 - -2,00	< 0,0001	160	306
ADCS-ADL ₂₃	0,46 ± 1,47	-2,43 - 3,34	0,7552	32	67	1,32 t 1,04	-0,71 - 3,36	0,2016	160	306
VVL (cm ³)	-1,46 ± 0,45	-2,33 - -0,58	0,0011	33	61	-1,35 ± 0,37	-2,08 - -0,62	0,0003	151	274
VCT (cm ³)	2,76 ± 1,66	-0,49 - 6,01	0,0966	32	61	4,69 ± 1,21	2,32 - 7,06	0,0001	148	271

25 A continuación se ilustran las trayectorias longitudinales correspondientes a lo largo de 65 semanas para ADAS-cog₁₁, ADCS-ADL₂₃, VVL y VCT en la figura 16.

Ejemplo 13: Análisis de la disminución de ADAS-cog₁₁ frente a la concentración plasmática

30 Se realizó un análisis adicional de la disminución de ADAS-cog durante 65 semanas utilizando una forma modificada de la ecuación de Hill (Wagner, 1968) para estimar las concentraciones plasmáticas mínimas y máximas para la respuesta al tratamiento esperada durante 65 semanas. Se aplicó la ecuación de Hill bajo el supuesto de no cooperatividad y se utilizó un cero general impuesto donde no había nivel de efecto tomado como 11 unidades en una
 35 concentración $C_{m\acute{a}x,ss}$ de 0,29 ng/ml basada en la inspección visual de los datos. El uso de diferentes valores límite no modificó significativamente los resultados. Además, se añadió un término lineal para permitir que las tendencias que ocurren en altas concentraciones se incluyan en el modelo utilizando datos para dosis en el intervalo de 150-250 mg/día. La ecuación de Hill ampliada se aplicó a los datos en la forma:

40
$$\text{cambio en parámetro} = E_{\text{mín.}} - (E_{\text{máx.}} * ([C] - 0,29) / (CE_{50} + ([C] - 0,29)) + (A * ([C] - 0,29)))$$

donde $E_{\text{mín.}}$ es el valor cero impuesto, $E_{\text{máx.}}$ es el efecto máximo del tratamiento asumido en la ecuación de Hill estándar, CE_{50} es la $C_{m\acute{a}x,ss}$ a la que el efecto del tratamiento es el 50 % del máximo asumido en la ecuación de Hill estándar y A es un término lineal adicional estimado por el modelo para tener en cuenta una posible respuesta bifásica. $C_{m\acute{a}x,ss}$
 45 también se expresó como la dosis media equivalente estimada utilizando una relación obtenida ajustando un modelo lineal a las concentraciones plasmáticas medias en las dosis de 8, 150, 200 y 250 mg/día:

$$\text{dosis estimada (mg/día)} = 0,045 * C_{m\acute{a}x,ss} + 0,016$$

50 Como puede observarse en la figura 17, existe una concentración-respuesta bifásica general para LMTM tomado solo o en combinación con tratamientos sintomáticos. El intervalo de dosis en el que se estima que la respuesta al tratamiento es máxima es de 20 a 60 mg/día.

55 En comparación con la monoterapia, el tratamiento máximo estimado se reduce en aproximadamente 4 unidades ADAS-cog cuando LMTM se combina con tratamientos sintomáticos. Un efecto adicional es desplazar la concentración

de $C_{m\acute{a}x,ss}$ requerida para la mitad de la respuesta máxima al tratamiento a la derecha de $0,32 \pm 0,01$ ng/ml a $0,40 \pm 0,05$ ng/ml.

5 Sera evidente que los efectos de la concentración plasmática y el estado de medicación concomitante son aditivos. Esto permite una estimación global del beneficio del tratamiento comparando pacientes que reciben la dosis de 8 mg/día como monoterapia y que tienen niveles plasmáticos superiores al umbral de 0,373 ng/ml con pacientes que reciben la misma dosis en combinación con tratamientos sintomáticos y que tienen niveles plasmáticos inferiores a este umbral. Como puede observarse en la figura 17, el último grupo es el que más se aproxima a la respuesta mínima medible al tratamiento. Este análisis muestra que el efecto del tratamiento con la dosis de 8 mg/día como monoterapia en pacientes con niveles plasmáticos terapéuticos del fármaco es de -7,53 (IC -9,93 - -5,13, $p < 0,0001$) unidades ADAS-cog₁₁, con efectos de tratamiento correspondientes para ADCS-ADL₂₃, VVL y VCT (Tabla EJX6 siguiente):

Tabla EJ6: Comparación de LMTM como complemento frente a monoterapia y entre $C_{m\acute{a}x}$ baja del complemento y $C_{m\acute{a}x}$ alta de la monoterapia.

	Comparación de LMTM, 8 mg/día, $C_{m\acute{a}x}$ baja del complemento frente a la $C_{m\acute{a}x}$ como monoterapia				
	Diferencia \pm SEM	IC	valor de p	$N_{bajo, complemento}$	$N_{alto, mono}$
ADAS-cog ₁₁	-7,53 \pm 1,22	-9,93 - -5,13	< 0,0001	160	67
ADCS-ADL ₂₃	6,14 \pm 1,64	2,93 - 9,34	0,0002	160	67
VVL (cm ³)	-3,15 \pm 0,62	-4,37 - -1,93	< 0,0001	151	61
VCT (cm ³)	11,54 \pm 1,87	7,88 - 15,21	< 0,0001	148	61

15 Ejemplo 14: Implicaciones de los hallazgos relacionados con la monoterapia frente a la terapia complementaria en relación con los regímenes de dosificación

20 Como es evidente a partir de lo anterior, hay una reducción en el efecto máximo de LMTM cuando se combina con tratamientos sintomáticos. Sin embargo, cabe señalar que, que esto se relaciona con un contexto en el que los pacientes han recibido LMTM en un contexto de pretratamiento crónico con fármacos sintomáticos. El mecanismo de esto se ha dilucidado en una serie de experimentos en un modelo de ratón transgénico tau bien caracterizado. Si estos animales reciben un tratamiento previo crónico con un inhibidor de la colinesterasa (rivastigmina), casi todos los efectos neurobiológicos observados cuando se administra LMTM solo se reducen o eliminan por completo, lo que conduce a la eliminación del efecto beneficioso de LMTM sobre la memoria de aprendizaje espacial. El tratamiento previo con memantina también eliminó el efecto sobre la memoria de aprendizaje espacial (resultados no mostrados).

25 El mecanismo parece ser una regulación negativa homeostática generalizada que afecta a muchos sistemas sinápticos y neurotransmisores del cerebro y que contrarresta los efectos activadores de los fármacos sintomáticos. Por lo tanto, los efectos inducidos por LMTM están sujetos a una regulación negativa dinámica si el cerebro ya está sujeto a *anteriormente*. estimulación crónica mediante tratamientos sintomáticos.

30 Ejemplo 15 - Análisis adicional en relación con la provisión de un régimen de dosificación optimizado en poblaciones de sujetos FTP (no de acuerdo con la invención reivindicada)

35 El punto de corte que definió el límite superior del grupo del 35 % más bajo (correspondiente al porcentaje de pacientes con niveles plasmáticos por debajo del límite de cuantificación validado el día 1) fue *0,346 ng/ml* para la población con DFTvc.

40 En cuanto a EA (véase el Ejemplo 10), el resto con niveles plasmáticos del Día 1 dentro del intervalo validado de cuantificación en la dosis de 8 mg/día se distribuyó en 3 grupos que tenían números aproximadamente iguales (22 % cada uno; (véase la Tabla EJ7 siguiente).

Tabla EJ7: $C_{m\acute{a}x,ss}$ de MT original modelado en plasma para grupos de LMTM

Grupos de dosis	$C_{m\acute{a}x,ee}$ (ng/ml)		
	n (%)	Media (SD)	Intervalo
8 mg/día			
8 mg/día - Grupo 1	32 (35 %)	0,321 (0,0198)	0,281-0,346
8 mg/día - Grupo 2	20 (22 %)	0,355 (0,0082)	0,346-0,372
8 mg/día - Grupo 3	19 (21 %)	0,387 (0,0121)	0,373-0,409
8 mg/día - Grupo 4	20 (22 %)	0,470 (0,0537)	0,413-0,583
200 mg/día	81	9,040 (1,6259)	6,800-14,235

45 Existe una relación concentración-respuesta similar para las medidas de progresión de la atrofia cerebral por resonancia magnética (volumen frontotemporal, volumen ventricular lateral, volumen cerebral total). Esto se muestra en la figura 18.

50 Se realizaron análisis de eficacia alternativos en los que se utilizó al grupo de pacientes con exposición sistémica

mínima al fármaco como sustituto del placebo. Estos se muestran en la Tabla EJ8 siguiente y se ilustran en la Figura 19.

5 Ejemplo 16 - Análisis de la probabilidad de los resultados frente a la concentración plasmática (no de acuerdo con la invención reivindicada)

Como puede observarse en la Figura 18 anterior, los efectos del tratamiento fueron peores con la dosis alta de 200 mg/día en todos los resultados, lo que implica una relación bifásica concentración-respuesta en DFTvc.

- 10 En cuanto a la EA, se aplicó una ecuación de Hill ampliada bajo el supuesto de no cooperatividad y se utilizaron valores cero generales impuestos donde el nivel sin efecto se tomó como -12 unidades ACE-R, 8 unidades FAQ o -30 cm³ para el volumen cerebral total a una concentración $C_{m\acute{a}x,ss}$ de 0,29 ng/ml basada en la inspección visual de los datos. El uso de diferentes valores límite no modificó significativamente los resultados. Además, se añadió un término lineal para permitir que las tendencias que ocurren en altas concentraciones se incluyan en el modelo utilizando la
- 15 disminución media que ocurre en la dosis de 200 mg/día.
La ecuación de Hill ampliada proporcionó un ajuste sólido a la concentración-respuesta media para el cambio en ACE-R, FQ y volumen cerebral total durante 52 semanas. El ajuste del modelo para todos los resultados es coherente con el supuesto de que la concentración plasmática límite inferior requerida para la respuesta al tratamiento es 0,29 ng/ml en pacientes que reciben la dosis de 8 mg/día. La subagrupación en terciles de los datos del volumen cerebral total
- 20 de los pacientes que recibieron la dosis de 200 mg/día (Fig. 20) permitió estimar la concentración límite máxima en la que se perdió el efecto del tratamiento, es decir, 13,57 ng/ml (que corresponde a una dosis prevista de 301 mg/día).

Tabla E.18: Comparación de pacientes clasificados por encima ("alto") o por debajo ("bajo") del umbral de MT original de 0,346 ng/ml

	Pacientes que reciben LMTM 8 mg/día													
	Todos los pacientes					Diferencia \pm SEM para $C_{máx,ss} > 0,346$ ng/ml					Diferencia \pm SEM para $C_{máx,ss} \leq 0,346$ ng/ml			
	Diferencia \pm SEM para $C_{máx,ss} > 0,346$ ng/ml	IC	Valor de p	N _{bajo}	N _{alto}	Diferencia \pm SEM para $C_{máx,ss} > 0,346$ ng/ml	IC	Valor de p	N _{bajo}	N _{alto}	Diferencia \pm SEM para $C_{máx,ss} \leq 0,346$ ng/ml			
ACE-R	1,37 \pm 2,60	-3,73 - 6,47	0,5973	31	125	5,06 \pm 2,62	-0,08-10,21	0,0536	31	57	-11,33 \pm 2,09			
FAQ	-2,98 \pm 1,10	-5,15-- 0,82	0,0069	31	114	-3,27 \pm 1,32	-5,85-- 0,69	0,0131	31	57	7,13 \pm 1,06			
VCT (cm ³)	9,05 \pm 3,06	3,06-15,04	0,0031	28	112	11,67 \pm 3,41	5,00-18,36	0,0006	28	51	-27,72 \pm 2,73			
VVL (cm ³)	-3,41 \pm -0,95	-5,27-- 1,55	0,0003	28	104	-4,12 \pm 1,06	-6,19-2,05	<0,0001	28	45	9,13 \pm 0,82			
FTV (cm ³)	0,73 \pm 0,24	0,26-1,19	0,0023	28	112	0,72 \pm 0,27	0,19-1,26	0,0076	28	51	-2,47 \pm 0,22			

Referencias para la discusión de la técnica anterior

- Alzheimer A. Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allg Z Psych Psych-gerich Med* 1907; 64: 146-8 [German].
- 5 Alzheimer's Disease International. Informe Mundial sobre el Alzheimer 2015: El impacto global de la demencia, un análisis de prevalencia, incidencia, costes y tendencias. Informe Mundial sobre el Alzheimer 2015.
- Arriagada PW, Growdon JH, Hedley-White ET, Hyman BT. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 1992; 42: 631-9.
- 10 Baddeley T, C., McCaffrey J, Storey JMD, *et al.* Complex disposition of methylthioninium redox forms determines efficacy in tau aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *J Pharmacol Exptl Therapeutics* 2015; 352: 110-8.
- Braak H, Del Tredici K. The pathological process underlying Alzheimer's disease in individuals under thirty. *Acta Neuropathol* 2011; 121: 171-81.
- 15 Brier MR, Gordon B, Friedrichsen K, *et al.* Tau and A β imaging, CSF measures, and cognition in Alzheimer's disease. *Science Transl Med* 2016; 8: 338ra66.
- DiSanto AR, Wagner JG. Pharmacokinetics of highly ionized drugs. II. Methylene blue - absorption, metabolism, and excretion in man and dog after oral administration. *J Pharmaceut Sci* 1972; 61: 1086-90.
- Geerts H, Spiros A, Roberts P, Carr R. A strategy for developing new treatment paradigms for neuropsychiatric and neurocognitive symptoms in Alzheimer's disease. *Front Pharmacol* 2013; 4: 47.
- 20 Giannakopoulos P, Herrmann FR, Bussiere T, *et al.* Tangle and neuron numbers, but not amyloid load, predict cognitive status in Alzheimer's disease. *Neurology* 2003; 60: 1495-500.
- Harrington CR, Storey JMD, Clunas S, *et al.* Cellular models of aggregation-dependent template-directed proteolysis to characterize tau aggregation inhibitors for treatment of Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 2015; 290: 10862-75.
- 25 Huang Y, Mucke L. Alzheimer mechanisms and therapeutic strategies. *Cell* 2012; 148: 1204-22.
- Josephs KA, Whitwell JL, Ahmed Z, *et al.* b-Amyloid burden is not associated with rates of brain atrophy. *Ann Neurol* 2008; 63: 204-12.
- Lai RYK, Harrington CR, Wischik CM. Absence of a role for phosphorylation in the tau pathology of Alzheimer's disease. *Biomolecules* 2016; 6: 19.
- 30 Maruyama M, Shimada H, Suhara T, *et al.* Imaging of tau pathology in a tauopathy mouse model and in Alzheimer patients compared to normal controls. *Neuron* 2013; 79: 1094-108.
- May JM, Qu Z-c, Cobb CE. Reduction and uptake of methylene blue by human erythrocytes. *Am J Physiol - Cell Physiol* 2004; 286: C1390-8.
- 35 Melis V, Magbagbeolu M, Rickard JE, *et al.* Effects of oxidized and reduced forms of methylthioninium in two transgenic mouse tauopathy models. *Behav Pharmacol* 2015; 26: 353-68.
- Mukaetova-Ladinska EB, Garcia-Sierra F, Hurt J, *et al.* Staging of cytoskeletal and b-amyloid changes in human isocortex reveals biphasic synaptic protein response during progression of Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 2000; 157: 623-36.
- 40 Mullane K, Williams M. Alzheimer's therapeutics: Continued clinical failures question the validity of the amyloid hypothesis-but what lies beyond? *Biochem Pharmacol* 2013; 85: 289-305.
- Peter C, Hongwan D, Küpfer A, Lauterburg BH. Pharmacokinetics and organ distribution of intravenous and oral methylene blue. *Eur J Clin Pharmacol* 2000; 56: 247-50.
- Schneider A, Biernat J, von Bergen M, Mandelkow E, Mandelkow E-M. Phosphorylation that detaches tau protein from microtubules (Ser262, Ser214) also protects it against aggregation into Alzheimer paired helical filaments. *Biochemistry* 1999; 38: 3549-58.
- 45 Winblad B, Amouyel P, Andrieu S, *et al.* Defeating Alzheimer's disease and other dementias: a priority for European science and society. *Lancet Neurol* 2016; 15: 455-532.
- Wischik CM, Crowther RA, Stewart M, Roth M. Subunit structure of paired helical filaments in Alzheimer's disease. *J Cell Biol* 1985; 100: 1905-12.
- 50 Wischik CM, Edwards PC, Lai RYK, *et al.* Quantitative analysis of tau protein in paired helical filament preparations: implications for the role of tau protein phosphorylation in PHF assembly in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 1995; 16: 409-31.
- Wischik CM, Edwards PC, Lai RYK, Roth M, Harrington CR. Selective inhibition of Alzheimer disease-like tau aggregation by phenothiazines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 11213-8.
- 55 Wischik CM, Harrington CR, Storey JMD. Tau-aggregation inhibitor therapy for Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 2014; 88: 529-39.
- Wischik CM, Novak M, Edwards PC, Klug A, Tichelaar W, Crowther RA. Structural characterization of the core of the paired helical filament of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4884-8.
- 60 Wischik CM, Novak M, Thrøgersen HC, *et al.* Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988; 85: 4506-10.
- Wischik CM, Staff RT, Wischik DJ, *et al.* Tau aggregation inhibitor therapy: an exploratory phase 2 study in mild or moderate Alzheimer's disease. *J Alzheimer's Dis* 2015; 44: 705-20.
- Wischik CM, Wischik DJ, Storey JMD, Harrington CR. Rationale for tau aggregation inhibitor therapy in Alzheimer's disease and other tauopathies. En: Martinez A, ed. *Emerging drugs and targets for Alzheimer's disease Volume 1: Beta-amyloid, tau protein and glucose metabolism*. Cambridge: Royal Society of Chemistry; 2010: 210-32.
- 65

Referencias para proteínas involucradas en enfermedades de agregación de proteínas

- Abrahamson, M., Jonsdottir, S., Olafsson, I. y Grubb, A. (1992) Hereditary cystatin C amyloid angiopathy identification of the disease-causing mutation and specific diagnosis by polymerase chain reaction based analysis. *Human Genetics* 89, 377-380.
- Andersen, P. (2006) Amyotrophic lateral sclerosis associated with mutations in the CuZn superoxide dismutase gene. *Current Neurology and Neuroscience Reports* 6, 37-46.
- Arai, T., Hasegawa, M., Nonoka, T., Kametani, F., Yamashita, M., Hosokawa, M., Niizato, K., Tsuchiya, K., Kobayashi, Z., Ikeda, K., Yoshida, M., Onaya, M., Fujishiro, H. y Akiyama, H. (2010) Phosphorylated and cleaved TDP-43 in ALS, FTLN and other neurodegenerative disorders and in cellular models of TDP-43 proteinopathy. *Neuropathology* 30, 170-181.
- Askanas, V., Engel, W.K. y Nogalska, A. (2009) Inclusion body myositis: a degenerative muscle disease associated with intra-muscle fiber multi-protein aggregates, proteasome inhibition, endoplasmic reticulum stress and decreased lysosomal degradation. *Brain Pathology* 19, 493-506.
- Barmada, S.J., Skibinski, G., Korb, E., Rao, E.J., Wu, J.Y. y Finkbeiner, S. (2010) Cytoplasmic mislocalization of TDP-43 is toxic to neurons and enhanced by a mutation associated with familial amyotrophic lateral sclerosis. *Journal of Neuroscience* 30, 639-649.
- Blair, I.P., Williams, K.L., Warraich, S.T., Durnall, J.C., Thoeng, A.D., Manavis, J., Blumbergs, P.C., Vucic, S., Kiernan, M.C. y Nicholson, G.A. (2010) FUS mutations in amyotrophic lateral sclerosis: clinical, patológicas, neurophysiological and genetic analysis. *Journal of Neurology Neurosurgery and Psychiatry* 81, 639-645.
- Booth, D.R., Sunde, M., Bellotti, V., Robinson, C.V., Hutchinson, W.L., Fraser, P.E., Hawkins, P. N., Dobson, C.M., Radford, S.E., Blake, C.C.F. y Pepys, M. B. (1997) Instability, unfolding and aggregation of human lysozyme variants underlying amyloid fibrillogenesis. *Nature* 385, 787-793.
- Byrne, S., Walsh, C., Lynch, C., Bede, P., Elamin, M., Kenna, K., McLaughlin, R. y Hardiman, O. (2011) Rate of familial amyotrophic lateral sclerosis: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* 82, 623-627.
- Carrell, R.W. y Gooptu, B. (1998) Conformational changes and disease - serpins, prions and Alzheimer's. *Current Opinion in Structural Biology* 8, 799-809.
- Chen-Plotkin, A.S., Lee, V.M.Y. y Trojanowski, J.Q. (2010) TAR DNA-binding protein 43 in neurodegenerative disease. *Nature Reviews Neurology* 6, 211-220.
- Chiti, F., Webster, P., Taddei, N., Clark, A., Stefani, M., Ramponi, G. y Dobson, C. (1999) Designing conditions for *in vitro* formation of amyloid protofilaments and fibrils. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 96, 3590-3594.
- Cox, L.E., Ferraiuolo, L., Goodall, E.F., Heath, P.R., Higginbottom, A., Mortiboys, H., Hollinger, H.C., Hartley, J.A., Brockington, A., Burness, C.E., Morrison, K.E., Wharton, S.B., Grierson, A.J., Ince, P.G., Kirby, J. y Shaw, P.J. (2010) Mutations in CHMP2B in lower motor neuron predominant amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *PLOS One* 5, e9872.
- Czech, C., Tremp, G. y Pradier, L. (2000) Presenilins and Alzheimer's disease: biological functions and pathogenic mechanisms. *Progress in Neurobiology* 60, 363-384.
- Davis, R.L., Shrimpton, A.E., Holohan, P.D., Bradshaw, C., Feiglin, D., Collins, G. H., Sonderegger, P., Kinter, J., Becker, L.M., Lacbawan, F., Krasnewich, D., Muenke, M., Lawrence, D.A., Yerby, M.S., Shaw, C.-M., Gooptu, B., Elliott, P.R., Finch, J.T., Carrell, R.W. y Lomas, D.A. (1999) Familial dementia caused by polymerization of mutant neuroserpin. *Nature* 401, 376-379.
- DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K.O., Davies, S.W., Bates, G.P., Vonsattel, J.P. y Aronin, N. (1997) Aggregation of huntingtin in neuronal intranuclear inclusions and dystrophic neurites in brain. *Science* 277, 1990-1993.
- Dische, F.E., Wernstedt, C., Westermark, G.T., Westermark, P., Pepys, M.B., Rennie, J.A., Gilbey, S. G. y Watkins, P.J. (1988) Insulin as an amyloid-fibril protein at sites of repeated insulin injections in a diabetic patient. *Diabetologia* 31, 158-161.
- Elden, A.C., Kim, H.-J., Hart, M.P., Chen-Plotkin, A.S., Johnson, B.S., Fang, X., Armarkola, M., Geser, F., Greene, R., Lu, M.M., Padmanabhan, A., Clay-Falcone, D., McCluskey, L., Elman, L., Juhr, D., Gruber, P. J., Rub, U., Auburger, G., Trojanowski, J.Q., Lee, V.M.Y., Van Deerlin, V.M., Bonini, N.M. y Gitler, A.D. (2010) Ataxin-2 intermediate-length polyglutamine expansions are associated with increased risk for ALS. *Nature* 466, 1069-1075.
- Finsterer, J. (2009) Mitochondrial disorders, cognitive impairment and dementia. *J. Neurol. Sci.* 283:143-148
- Gasset, M., Bladwin, M.A., Lloyd, D.H., Gabriel, J.-M., Holtzman, D.M., Cohen, F.E., Fletterick, R. y Prusiner, S. B. (1992) Predicted α -helical region of the prion protein when synthesized as peptides form amyloid. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 89, 10940-10944.
- Gendron, T.F., Josephs, K.A. y Petrucelli, L. (2010) Review: Transactive response DNA-binding protein 43 (TDP-43): mechanisms of neurodegeneration. *Neuropathology and Applied Neurobiology* 36, 97-112.
- Geser, F., Lee, V.M.-Y. y Trojanowski, J.Q. (2010) Amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal lobar degeneration: A spectrum of TDP-43 proteinopathies. *Neuropathology* 30, 103-112.
- Gitcho, M.A., Baloh, R.H., Chakraverty, S., Mayo, K., Norton, J.B., Levitch, D., Hatanpaa, K.J., White, C.L., III, Bigio, E.H., Caselli, R., Baker, M., Al-Lozi, M.T., Morris, J.C., Pestronk, A., Rademakers, R., Goate, A.M. y Cairns, N.J. (2008) TDP-43 A315T mutation in familial motor neuron disease. *Annals of Neurology* 63, 535-538.
- Glenner, G.G. y Wong, C.W. (1984) Alzheimer's disease: initial report of the purification and characterisation of a novel cerebrovascular amyloid protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 120, 885-890.
- Goate, A., Chartier-Harlin, M. C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N.,

- James, L., Mant, R., Newton, P., Rooke, K., Roques, P., Talbot, C., Pericak-Vance, M., Roses, A., Williamson, R., Rossor, M., Owen, M. y Hardy, J. (1991) Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704-706.
- 5 Gorevic, P.D., Casey, T.T., Stone, W.J., DiRaimondo, C.R., Prelli, F.C. y Frangione, B. (1985) b-2 Microglobulin is an amyloidogenic protein in man. *Journal of Clinical Investigation* 76, 2425-2429.
- Gustavsson, A., Engström, U. y Westermark, P. (1991) Normal transthyretin and synthetic transthyretin fragments form amyloid-like fibrils *in vitro*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 175, 1159-1164.
- Higashi, S., Tsuchiya, Y., Araki, T., Wada, K. y Kabuta, T. (2010) TDP-43 physically interacts with amyotrophic lateral sclerosis-linked mutant CuZn superoxide dismutase. *Neurochemistry International* 57, 906-913.
- 10 Hutton, M., Lendon, C., Rizzu, P., Baker, M., Froelich, S., Houlden, H., Pickering-Brown, S., Chakraverty, S., Isaacs, A., Grover, A., Hackett, J., Adamson, J., Lincoln, S., Dickson, D., Davies, P., Petersen, R.C., Stevens, M., de Graaf, E., Wauters, E., van Baren, J., Hillebrand, M., Joosse, M., Kwon, J.M., Nowotny, P., Che, L.K., Norton, J., Morris, J.C., Reed, L.A., Trojanowski, J.Q., Basun, H., Lannfelt, L., Neystat, M., Fahn, S., Oscuro, F., Tannenberg, T., Dodd, P.R., Hayward, N., Kwok, J.B.J., Schofield, P.R., Andreadis, A., Snowden, J., Craufurd, D., Neary, D., Owen, F., Oostra, B.A., Hardy, J., Goate, A., van Swieten, J., Mann, D., Lynch, T. y Heutink, P. (1998) Association of missense and 5'-splice-site mutations in tau with the inherited dementia FTDP-17. *Nature* 393, 702-705.
- 15 Igaz, L.M., Kwong, L.K., Chen-Plotkin, A., Winton, M.J., Unger, T.L., Xu, Y., Neumann, M., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2009) Expression of TDP-43 C-terminal fragments *in vitro* recapitulates pathological features of TDP-43 proteinopathies. *Journal of Biological Chemistry* 284, 8516-8524.
- Jinwal, Reino Unido, Miyata, Y, Koren, J, III, Jones, JR, Trotter, JH *et al.* (2009) Chemical manipulation of Hsp70 ATPase activity regulates tau stability. *J. Neurosci.* 29:12079-12088
- Johansson, B., Wernstedt, C. y Westermark, P. (1987) Atrial natriuretic peptide deposited as atrial amyloid fibrils. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 148, 1087-1092.
- 20 Johnson, B.S., McCaffery, J.M., Lindquist, S. y Gitler, A.D. (2008) A yeast TDP-43 proteinopathy model: Exploring the molecular determinants of TDP-43 aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105, 6439-6444.
- Johnson, B.S., Snead, D., Lee, J.J., McCaffery, J.M., Shorter, J. y Gitler, A.D. (2009) TDP-43 is intrinsically aggregation-prone, and amyotrophic lateral sclerosis-linked mutations accelerate aggregation and increase toxicity. *Journal of Biological Chemistry* 284, 20329-20339.
- 30 Johnson, J.O., Mandrioli, J., Benatar, M., Abramzon, Y., Van Deerlin, V.M., Trojanowski, J.Q., Gibbs, J.R., Brunetti, M., Gronka, S., Wu, J., Ding, J., McCluskey, L., Martinez-Lage, M., Falcone, D., Hernandez, D.G., Arepalli, S., Chong, S., Schymick, J.C., Rothstein, J., Landi, F., Wang, Y.-D., Calvo, A., Mora, G., Sabatelli, M., Monsurro, M.R., Battistini, S., Salvi, F., Spataro, R., Sola, P., Borghero, G., Galassi, G., Scholz, S.W., Taylor, J.P., Restagno, G., Chiò, A. Y Traynor, B.J. (2010) Exome sequencing reveals VCP mutations as a cause of familial ALS. *Neuron* 68, 857-864.
- 35 Kabashi, E., Lin, L., Tradewell, M.L., Dion, P.A., Bercier, V., Bourguoin, P., Rochefort, D., Bel Hadj, S., Durham, H. D., Velde, C.V., Rollo, G.A. y Drapeau, P. (2010) Gain and loss of function of ALS-related mutations of TARDBP (TDP-43) cause motor deficits *in vivo*. *Human Molecular Genetics* 19, 671-683.
- Kabashi, E., Valdmanis, P. N., Dion, P., Spiegelman, D., McConkey, B.J., Velde, C.V., Bouchard, J. P., Lacomblez, L., Pochigaeva, K., Salachas, F., Pradat, P.-F., Camu, W., Meininger, V., Dupre, N. y Rouleau, G.A. (2008) TARDBP mutations in individuals with sporadic and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Nature Genetics* 40, 572-574.
- 40 Ling, S.-C., Albuquerque, C.P., Han, J.S., Lagier-Tourenne, C., Tokunaga, S., Zhou, H. y Cleveland, D.W. (2010) ALS-associated mutations in TDP-43 increase its stability and promote TDP-43 complexes with FUS/TLS. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 13318-13323.
- 45 Lomas, D.A., Evans, D.L., Finch, J.T. & Carrell, R.W. (1992) The mechanism of Z α 1-antitrypsin accumulation in the liver. *Nature* 357, 605-607.
- Love, S., Bridges, L.R. y Case, C.P. (1995) Neurofibrillary tangles in Niemann-Pick disease type C. *Brain* 118, 119-129.
- 50 Mackenzie, I.R.A., Bigio, E.H., Ince, P.G., Geser, F., Neumann, M., Cairns, N.J., Kwong, L.K., Forman, M.S., Ravits, J., Stewart, H., Eisen, A., McClusky, L., Kretschmar, H.A., Monoranu, C.M., Highley, J.R., Kirby, J., Siddique, T., Shaw, P. J., Lee, V.M.Y. y Trojanowski, J.Q. (2007) Pathological TDP-43 distinguishes sporadic amyotrophic lateral sclerosis from amyotrophic lateral sclerosis with SOD1 mutations. *Annals of Neurology* 61, 427-434.
- Mackenzie, I.R.A., Rademakers, R. y Neumann, M. (2010) TDP-43 and FUS in amyotrophic lateral sclerosis and frontotemporal dementia. *The Lancet Neurology* 9, 995-1007.
- 55 Maury, C.P. y Baumann, M. (1990) Isolation and characterization of cardiac amyloid in familial amyloid polyneuropathy type IV (Finnish): relation of the amyloid protein to variant gelsolin. *Biochimica et Biophysica Acta* 1096, 84-86.
- Neary, D., Snowden, J.S., Gustafson, L., Passant, U., Stuss, D., Black, S., Freedman, M., Kertesz, A., Robert, P.H., Albert, M., Boone, K., Miller, B.L., Cummings, J. y Benson, D.F. (1998) Frontotemporal lobar degeneration: a consensus on clinical diagnostic criteria. *Neurology* 51, 1546-1554.
- 60 Neumann, M. (2009) Molecular neuropathology of TDP-43 proteinopathies. *International Journal of Molecular Sciences* 10, 232-246.
- Neumann, M., Sampathu, D.M., Kwong, L.K., Truax, A.C., Micsenyi, M.C., Chou, T.T., Bruce, J., Schuck, T., Grossman, M., Clark, C.M., McCluskey, L.F., Miller, B.L., Masliah, E., Mackenzie, I.R., Feldman, H., Feiden, W., Kretschmar, H.A., Trojanowski, J.Q. & Lee, V.M.Y. (2006) Ubiquitinated TDP-43 in frontotemporal lobar
- 65

- degeneration and amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 314, 130-133.
- Nonaka, T., Kametani, F., Arai, T., Akiyama, H. y Hasegawa, M. (2009) Truncation and pathogenic mutations facilitate the formation of intracellular aggregates of TDP-43. *Human Molecular Genetics* 18, 3353-3364.
- 5 Ohmi, K., Kudo, L.C., Ryazantsev, S., Zhao, H.-Z., Karsten, S.L. y Neufeld, E.F. (2009) Sanfilippo syndrome type B, una enfermedad del almacenamiento lisosómico, is also a tauopathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 8332-8337.
- Orr, H.T. y Zoghbi, H. Y. (2007) Trinucleotide repeat disorders. *Annual Review of Neuroscience* 30, 575-621.
- Paulson, H.L. (1999) Human genetics '99: repeticiones trinucleotídicas. *American Journal of Human Genetics* 64, 339-345.
- 10 Pepys, M.B., Hawkins, P. N., Booth, D.R., Vigushin, D.M., Tennent, G.A., Soutar, A.K., Totty, N., Nguyen, O., Blake, C.C.F., Terry, C.J., Feast, T.G., Zalin, A.M. y Hsuan, J.J. (1993) Human lysozyme gene mutations cause hereditary systemic amyloidosis. *Nature* 362, 553-557.
- Polymeropoulos, M.H., Lavedan, C., Leroy, E., Ide, S.E., Dehejia, A., Dutra, A., Pike, B., Root, H., Rubenstein, J., Boyer, R., Stenroos, E.S., Chandrasekharappa, S., Athanassiadou, A., Papaetropoulos, T., Johnson, W.G., Lazzarini, A.M., Duvoisin, R.C., Di Iorio, G., Golbe, L.I. y Nussbaum, R.L. (1997) Mutation in the α -synuclein gene identified in families with Parkinson's disease. *Science* 276, 2045-2047.
- 15 Prusiner, S.B., Scott, M.R., DeArmond, S.J. y Cohen, F. E. (1998) Prion protein biology. *Cell* 93, 337-348.
- Seetharaman, S.V., Prudencio, M., Karch, C., Holloway, S.P., Borchelt, D.R. y Hart, P.J. (2009) Immature copper-zinc superoxide dismutase and familial amyotrophic lateral sclerosis. *Experimental Biology and Medicine* 234, 1140-1154.
- 20 Seilhean, D., Cazeneuve, C., Thuries, V., Russaouen, O., Millecamps, S., Salachas, F., Meininger, V., LeGuern, E. y Duyckaerts, C. (2009) Accumulation of TDP-43 and α -actin in an amyotrophic lateral sclerosis patient with the K171 ANG mutation *Acta Neuropathologica* 118, 561-573.
- Shibata, N., Hirano, A., Kobayashi, M., Siddique, T., Deng, H.X., Hung, W.Y., Kato, T. y Asayama, K. (1996) Intense superoxide dismutase-1 immunoreactivity in intracytoplasmic hyaline inclusions of familial amyotrophic lateral sclerosis with posterior column involvement. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology* 55, 481-490.
- 25 Sletten, K., Westermark, P. y Natvig, J.B. (1976) Characterization of amyloid fibril proteins from medullary carcinoma of the thyroid. *Journal of Experimental Medicine* 143, 993-998.
- Spillantini, M.G., Crowther, R.A., Jakes, R., Hasegawa, M. y Goedert, M. (1998) α -Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 95, 6469-6473.
- 30 Sreedharan, J., Blair, I.P., Tripathi, V.B., Hu, X., Vance, C., Rogelj, B., Ackerley, S., Durnall, J.C., Williams, K.L., Buratti, E., Baralle, F., de Belleruche, J., Mitchell, J.D., Leigh, P. N., Al-Chalabi, A., Miller, C.C., Nicholson, G. y Shaw, C.E. (2008) TDP-43 mutations in familial and sporadic amyotrophic lateral sclerosis. *Science* 319, 1668-1672.
- 35 Uemichi, T., Liuepnicks, J.J. y Benson, M.D. (1994) Hereditary renal amyloidosis with a novel variant fibrinogen. *Journal of Clinical Investigation* 93, 731-736.
- van Bebber, F., Paquet, D., Hruscha, A., Schmid, B. y Haass, C. (2010) Methylene blue fails to inhibit Tau and polyglutamine protein dependent toxicity in zebrafish. *Neurobiology of Disease* 39, 265-271.
- 40 Vance, C., Rogelj, B., Hortobagyi, T., De Vos, K.J., Nishimura, A.L., Sreedharan, J., Hu, X., Smith, B., Ruddy, D., Wright, P., Ganesalingam, J., Williams, K.L., Tripathi, V., Al-Saraj, S., Al-Chalabi, A., Leigh, P. N., Blair, I.P., Nicholson, G., de Belleruche, J., Gallo, J.-M., Miller, C.C. y Shaw, C.E. (2009) Mutations in FUS, an RNA processing protein, cause familial amyotrophic lateral sclerosis type 6. *Science* 323, 1208-1211.
- 45 Westermark, P., Engstrom, U., Johnson, K. H., Westermark, G.T. y Betsholtz, C. (1990) Islet amyloid polypeptide: pinpointing amino acid residues linked to amyloid fibril formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 87, 5036-5040.
- Westermark, P., Johnson, K.H. y Pitkanen, P. (1985) Systemic amyloidosis: A review with emphasis on pathogenesis. *Applied Physiology* 3, 55-68.
- 50 Westermark, P., Johnson, K. H., O'Brien, T.D. y Betsholtz, C. (1992) Islet amyloid polypeptide - a novel controversy in diabetes research. *Diabetologia* 35, 297-303.
- Wijesekera, L. y Leigh, P.N. (2009) Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet Journal of Rare Diseases* 4, 3.
- Wischik, C.M., Novak, M., Thøgersen, H.C., Edwards, P.C., Runswick, M.J., Jakes, R., Walker, J.E., Milstein, C., M., R. y Klug, A. (1988) Isolation of a fragment of tau derived from the core of the paired helical filament of Alzheimer's disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 85, 4506-4510.
- 55 Yamashita, M., Nonaka, T., Arai, T., Kametani, F., Buchman, V.L., Ninkina, N., Bachurin, S.O., Akiyama, H., Goedert, M. y Hasegawa, M. (2009) Methylene blue and dimebon inhibit aggregation of TDP-43 in cellular models. *FEBS Letters* 583, 2419-2424.
- Zhang, Y.-J., Xu, Y.-F., Cook, C., Gendron, T.F., Roettges, P., Link, C. D., Lin, W.-L., Tong, J., Castanedes-Casey, M., Ash, P., Gass, J., Rangachari, V., Buratti, E., Baralle, F., Golde, T.E., Dickson, D.W. y Petrucelli, L. (2009) Aberrant cleavage of TDP-43 enhances aggregation and cellular toxicity. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 7607-7612.

Referencias para los ejemplos

- 65 Gauthier, S., Feldman, H.H., Schneider, L.S., Wilcock, G.K., Frisoni, G.B., Hardlund, J.H., Moebius, H.J., Bentham, P., Kook, K.A., Wischik, D.J., Schelter, B.O., Davis, C.S., Staff, R.T., Bracoud, L., Shamsi, K., Storey, J.M.D., Harrington,

C.R. y Wischik, C.M. (2016) Efficacy and safety of tau-aggregation inhibitor therapy in patients with mild or moderate Alzheimer's disease: a randomised, controlled, double-blind, parallel-arm, phase 3 trial. *The Lancet* 388, 2873-2884.

5 Wilcock, G.K., Gauthier, S., Frisoni, G.B., Jia, J., Hardlund, J.H., Moebius, H.J., Bentham, P., Kook, K.A., Schelter, B.O., Wischik, D.J., Davis, C.S., Staff, R.T., Vuksanovic, V., Ahearn, T., Bracoud, L., Shamsi, K., Marek, K., Seibyl, J., Reidel, G., Storey, J.M.D., Harrington, C.R. y Wischik, C.M. (2018) Potential of low dose leuco-methylthionium bis(hydromethanesulphonate) (LMTM) monotherapy for treatment of mild Alzheimer's disease: cohort analysis as modified primary outcome in a phase 3 clinical trial. *Journal of Alzheimer's Disease* 61, 635-657.

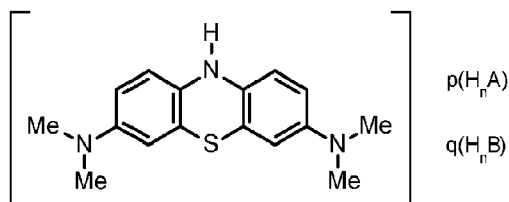
10 Kipps, C.M., Nestor, P. J., Dawson, C.E., Mitchell, J., Hodges, J.R. (2008) Measuring progression in frontotemporal dementia: Implications for therapeutic interventions. *Neurology* 70:2046-2052.

Wagner JG. Kinetics of pharmacologic response I. Proposed relationships between response and drug concentration in the intact animal and man. *J Theor Biol.* 1968;20(2):173-201.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que contiene metiltioninio ("MT") para su uso en un método de tratamiento terapéutico o profiláctico de un trastorno neurodegenerativo en un sujeto humano,

cuyo tratamiento comprende administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT, en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 20,5 y 60 mg de MT al sujeto al día, opcionalmente dividido en 2 o más dosis, en donde el compuesto que contiene MT es un compuesto LMTX de la siguiente fórmula:



en donde cada uno de H_nA y H_nB (cuando están presentes) son ácidos próticos que pueden ser iguales o diferentes,

y en donde $p = 1$ o 2 ; $q = 0$ o 1 ; $n = 1$ o 2 ; $(p + q) \times n = 2$,

y en donde dicho trastorno se selecciona entre la lista que consiste en: enfermedad de Alzheimer; enfermedad de Pick, parálisis supranuclear progresiva; complejo desinhibición-demencia-parkinsonismo-amiotrofia, degeneración palido-ponto-nigral, síndrome de Guam-ELA, degeneración palido-nigro-luisiana, degeneración corticobasal, demencia con granos argirofílicos, demencia pugilística o encefalopatía traumática crónica, síndrome de Down, panencefalitis esclerosante subaguda, enfermedad de Niemann-Pick, de tipo C, síndrome de Sanfilippo tipo B, o una distrofia miotónica DM1 o DM2.

2. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 1, en donde la dosis diaria total es de 21 a 40 mg; de 21 a 32 mg; o de 24 a 32 mg.

3. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 1, en donde la dosis diaria total es de aproximadamente 20,5, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40 mg.

4. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde la dosis diaria total del compuesto que contiene MT se administra como una vez al día, o como una dosis dividida dos veces al día o tres veces al día.

5. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el sujeto:

(a) no ha recibido históricamente tratamiento con un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato, o

(b) ha recibido históricamente tratamiento con un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato, pero cesó ese tratamiento al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 días, o 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, semanas antes del tratamiento con el compuesto que contiene MT, o

(c) se selecciona como alguien que está recibiendo tratamiento con un inhibidor de la acetilcolinesterasa o un antagonista del receptor N-metil-D-aspartato, en donde dicho tratamiento se interrumpe antes del tratamiento con el compuesto que contiene MT.

6. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tratamiento terapéutico no se combina con un inhibidor de la acetilcolinesterasa y/o un antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

7. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el tratamiento terapéutico se combina con un inhibidor de la acetilcolinesterasa y/o un antagonista del receptor de N-metil-D-aspartato.

8. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 7, en donde el inhibidor de la acetilcolinesterasa se selecciona entre la lista que consiste en donepezilo; rivastigmina; y galantamina y/o el antagonista del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA) es memantina.

9. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en donde el trastorno es enfermedad de Alzheimer.

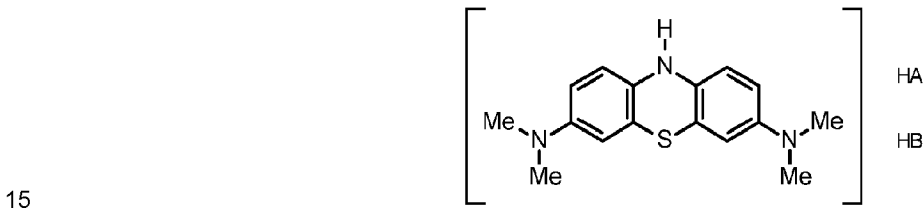
10. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 9, en donde el tratamiento es un tratamiento de

combinación de un primer agente que es el compuesto que contiene MT a la dosis especificada en combinación con un segundo agente que es un inhibidor del procesamiento de la proteína precursora amiloide a beta-amiloide.

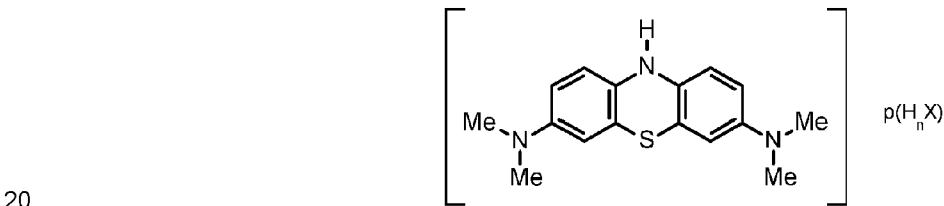
5 11. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 9 o la reivindicación 10, en donde el tratamiento es parte de un régimen de tratamiento que comprende:

- 10 (i) administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT durante un primer período de tiempo, en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 1 y 10 mg de MT al sujeto al día;
 (ii) administrar por vía oral a dicho sujeto el compuesto que contiene MT durante un período de tiempo adicional, en donde dicha administración proporciona una dosis diaria total de entre 20,5 y 60 mg de MT al sujeto al día.

12. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula, donde HA y HB son ácidos monopróticos diferentes:

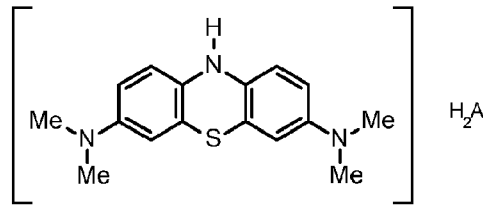


13. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula:

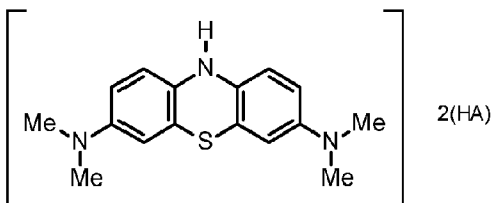


en donde cada uno de H_nX es un ácido prótico.

25 14. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula y H_2A es un ácido diprótico:



15. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT tiene la siguiente fórmula y es un ácido bis-monoprotico:



16. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde el o cada ácido prótico es un ácido inorgánico.

17. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 16, en donde cada ácido prótico es un ácido hidrohalaruro.

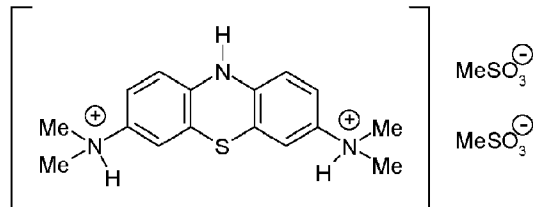
40 18. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, en donde el o cada

ácido prótico es un ácido orgánico.

19. El compuesto para su uso según se reivindica en la reivindicación 18, en donde el o cada ácido prótico se selecciona entre H₂CO₃; CH₃COOH; ácido metanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido etanosulfónico, ácido naftalenodisulfónico, ácido p-toluenosulfónico.

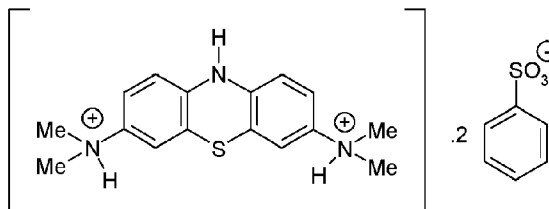
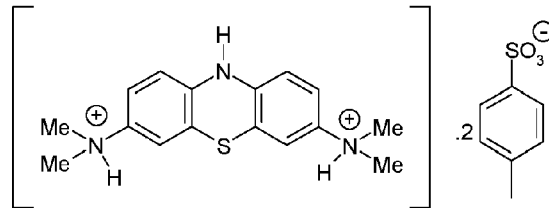
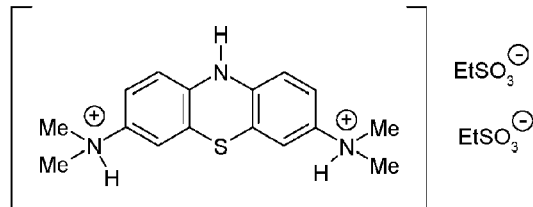
20. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT es LMTM:

10

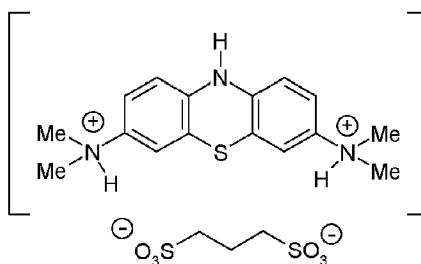
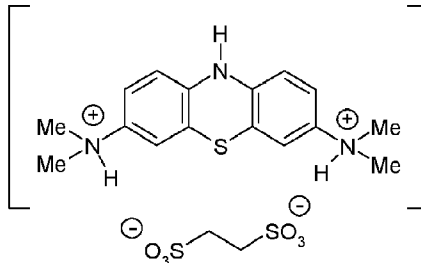


21. El compuesto para su uso según se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, en donde el compuesto que contiene MT se selecciona entre la lista que consiste en:

15



20



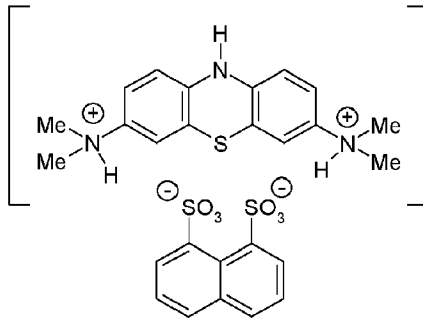


Figura 1

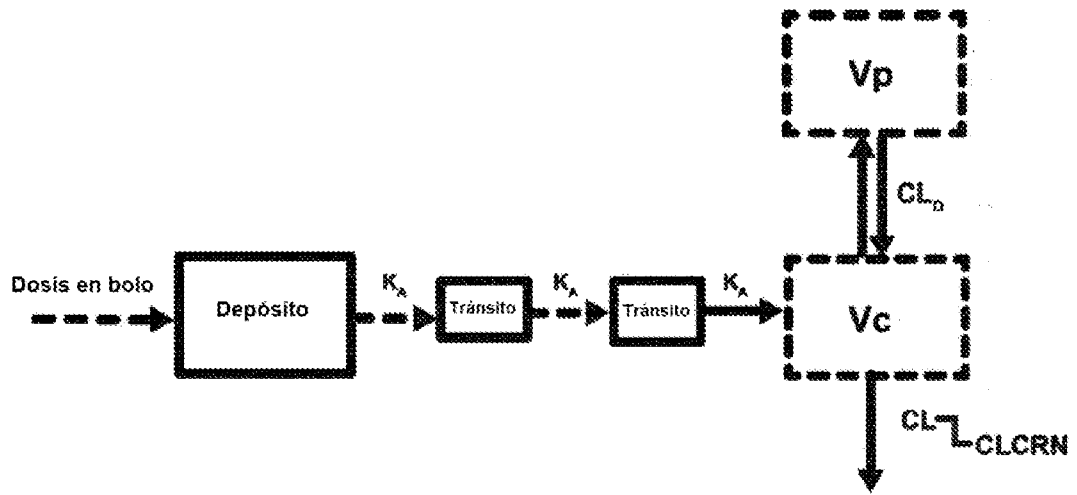
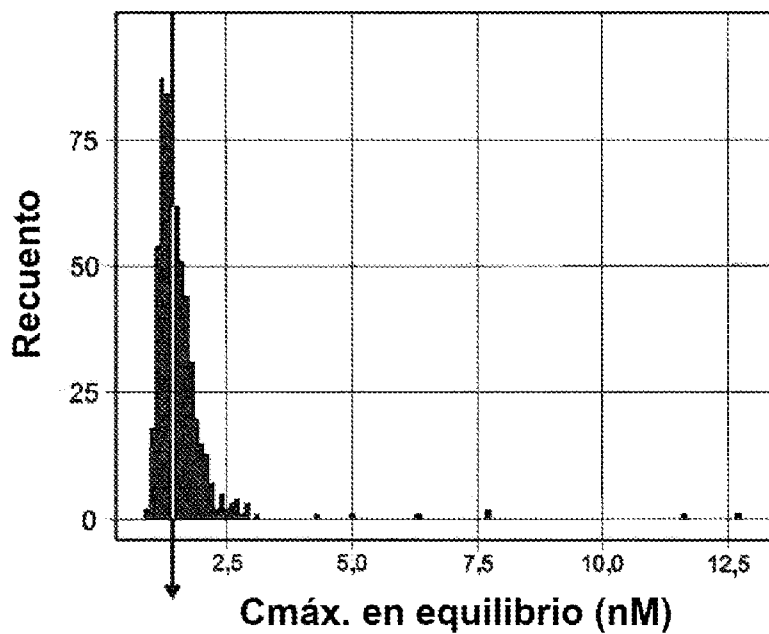


Figura 2a y 2b

A 8 mg/día



B Aprox. 200 mg/día

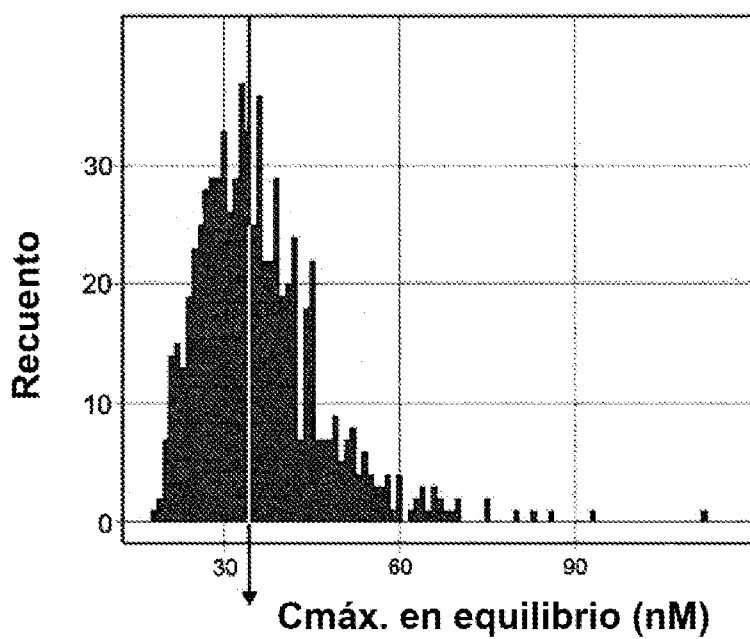


Figura 3a y 3b

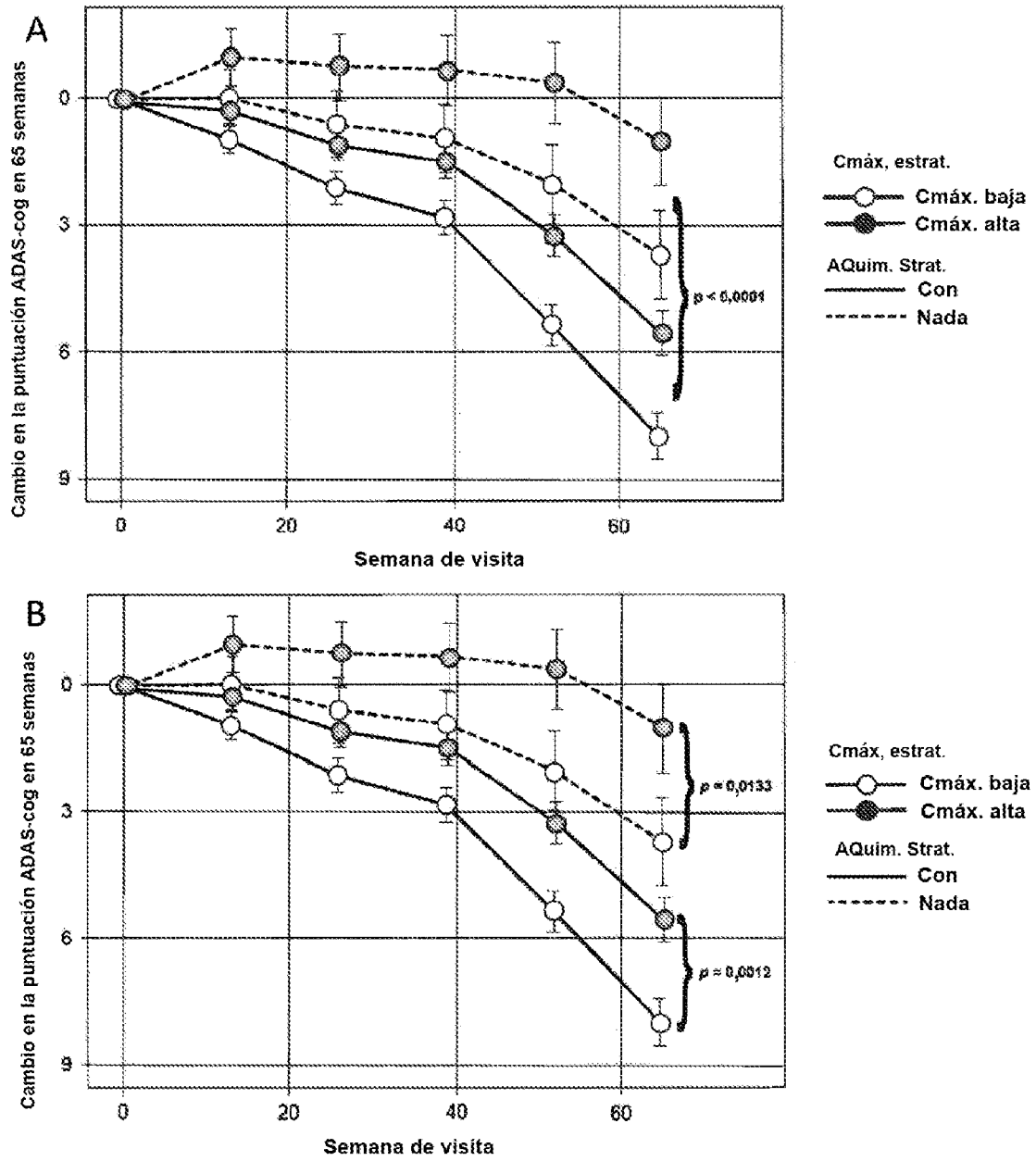


Figura 4

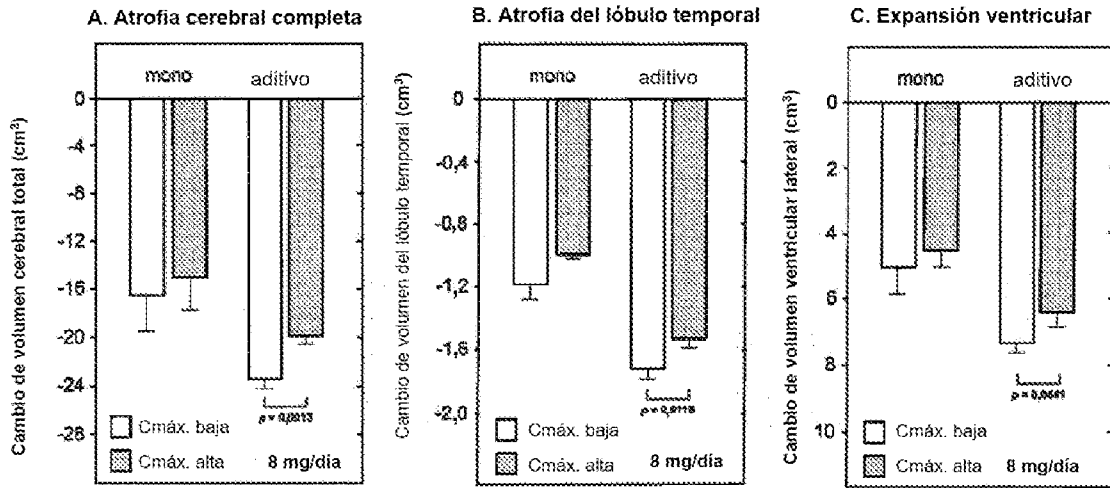


Figura 5

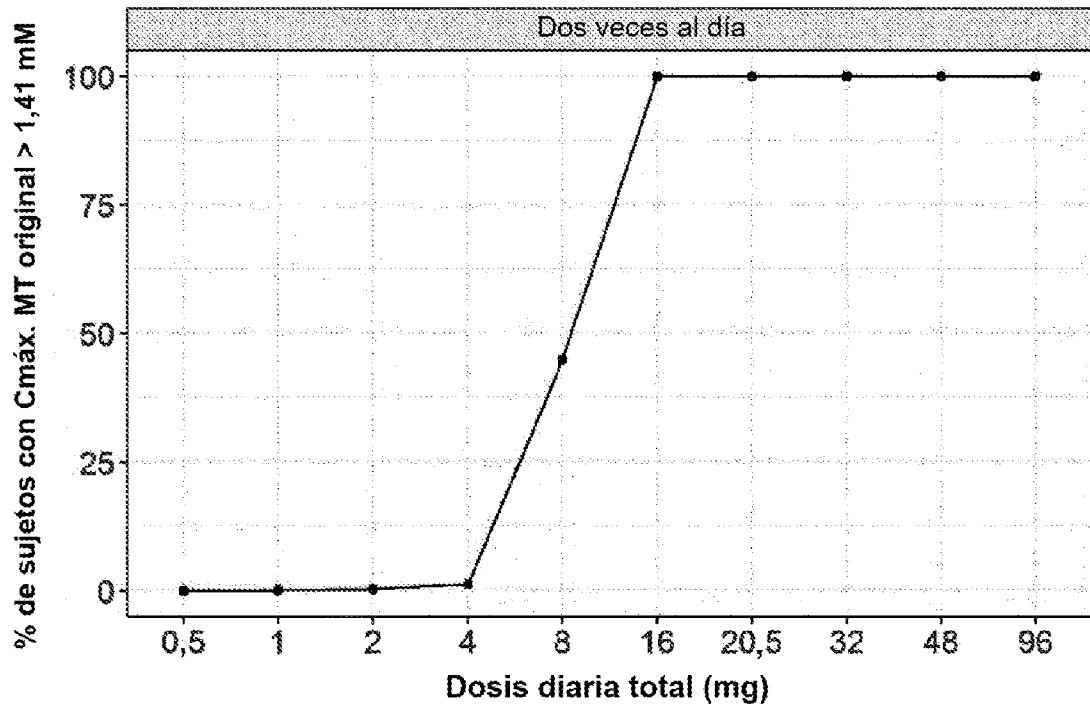


Figura 6

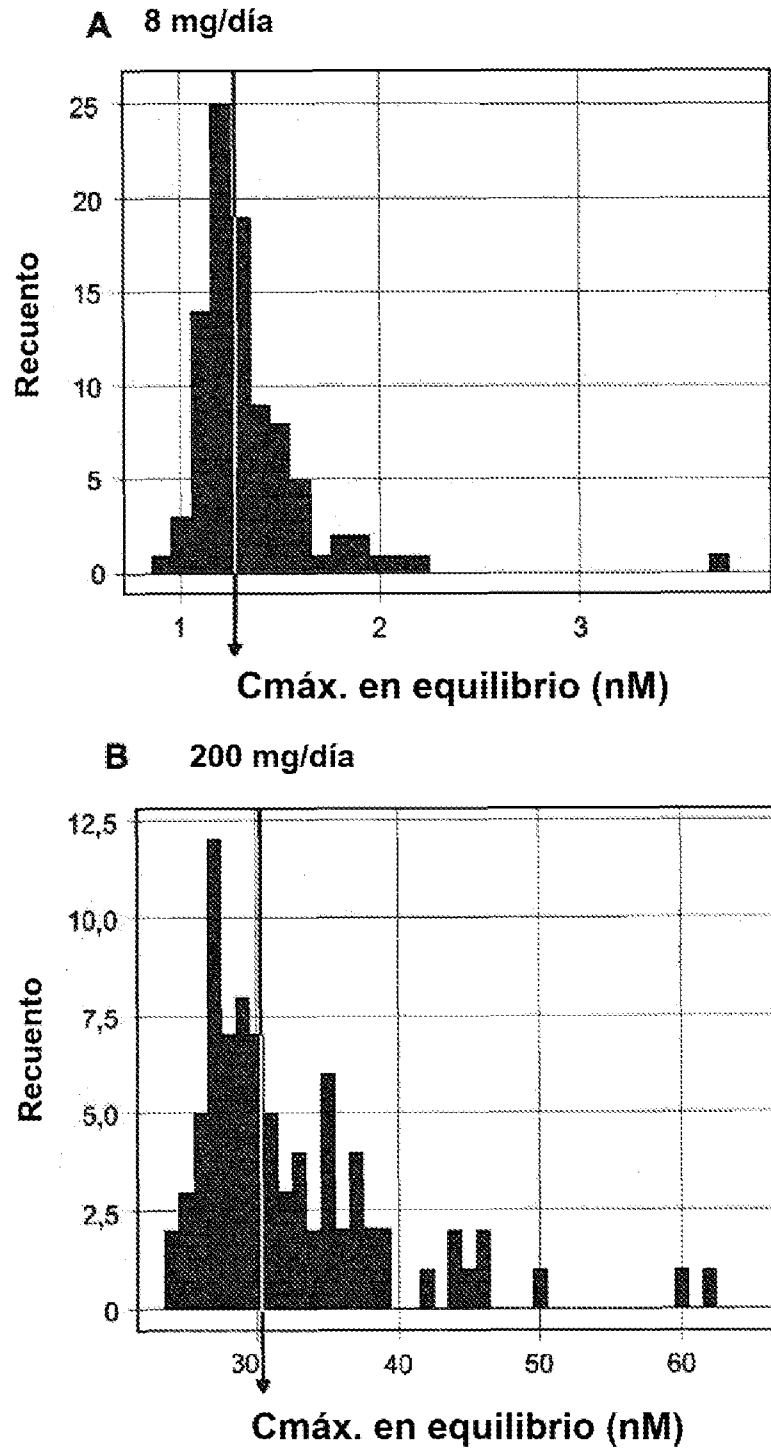


Figura 7

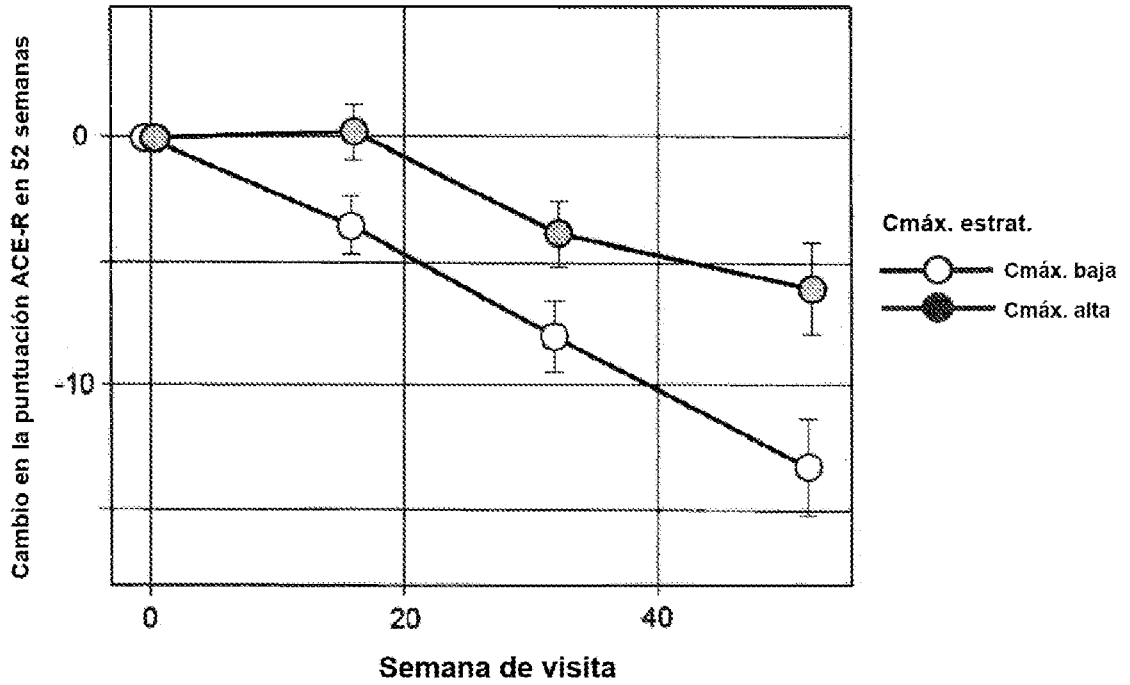


Figura 8

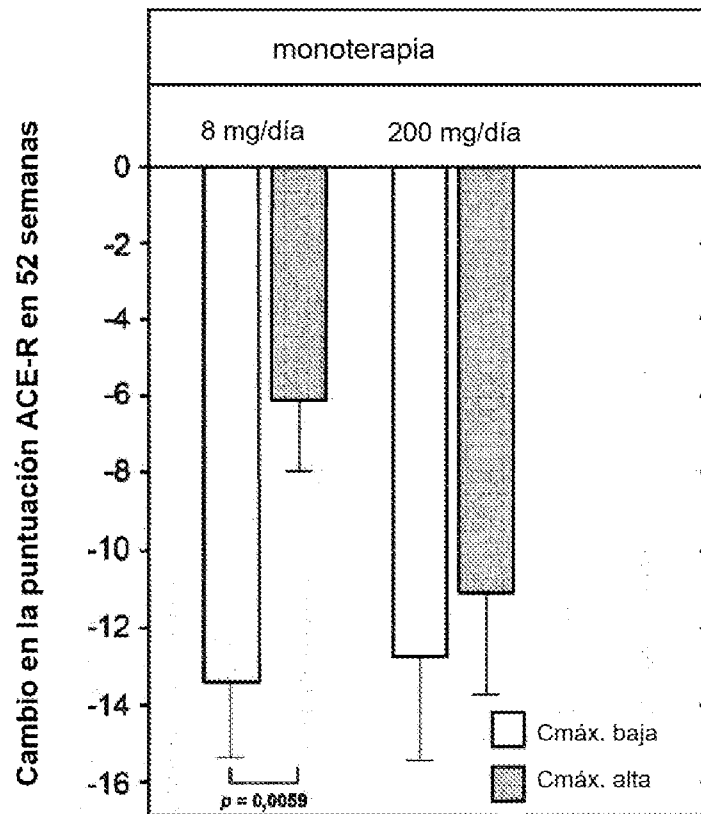


Figura 9

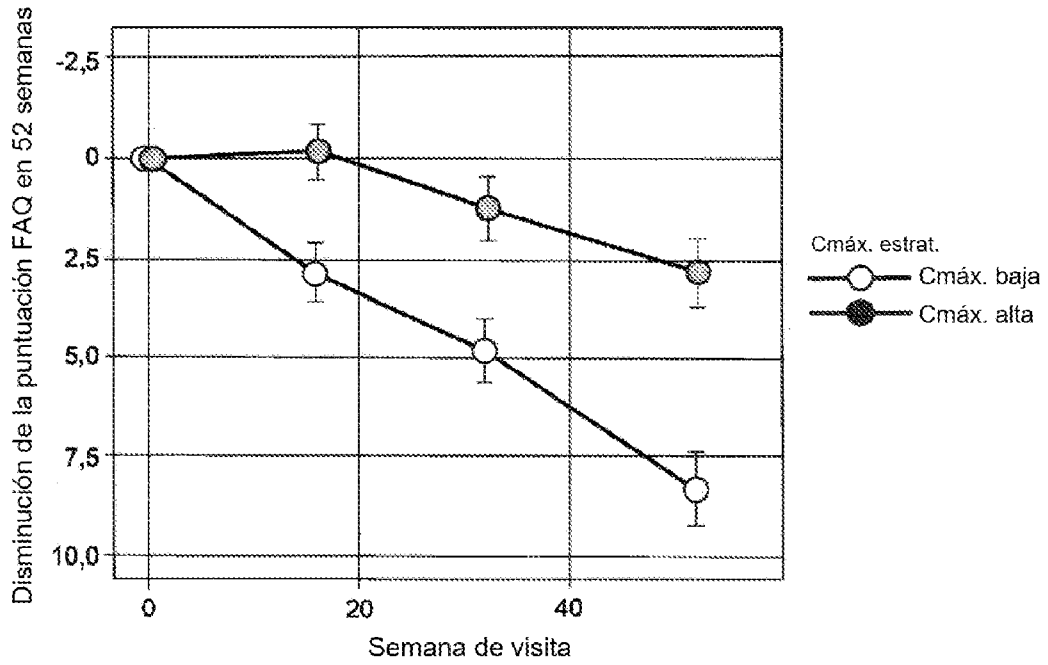


Figura 10

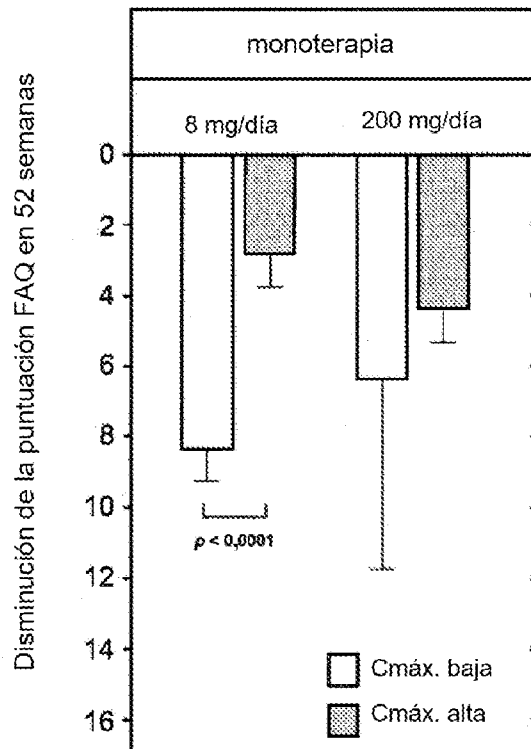
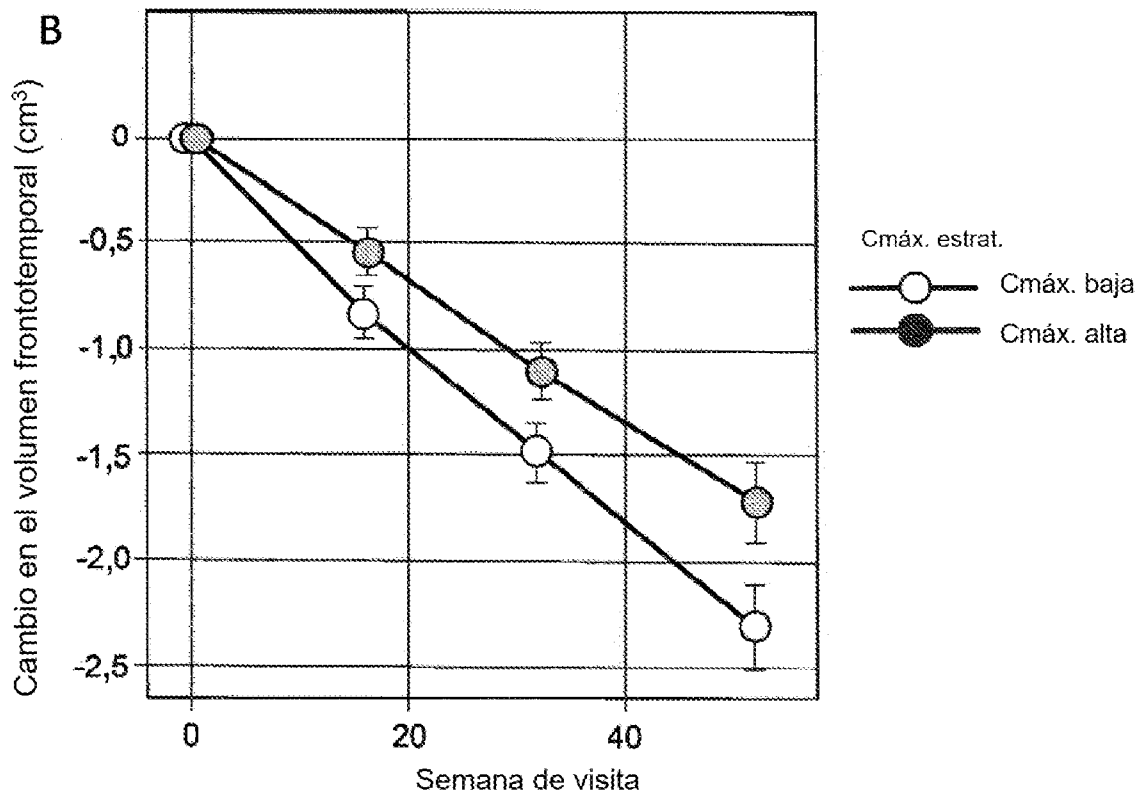
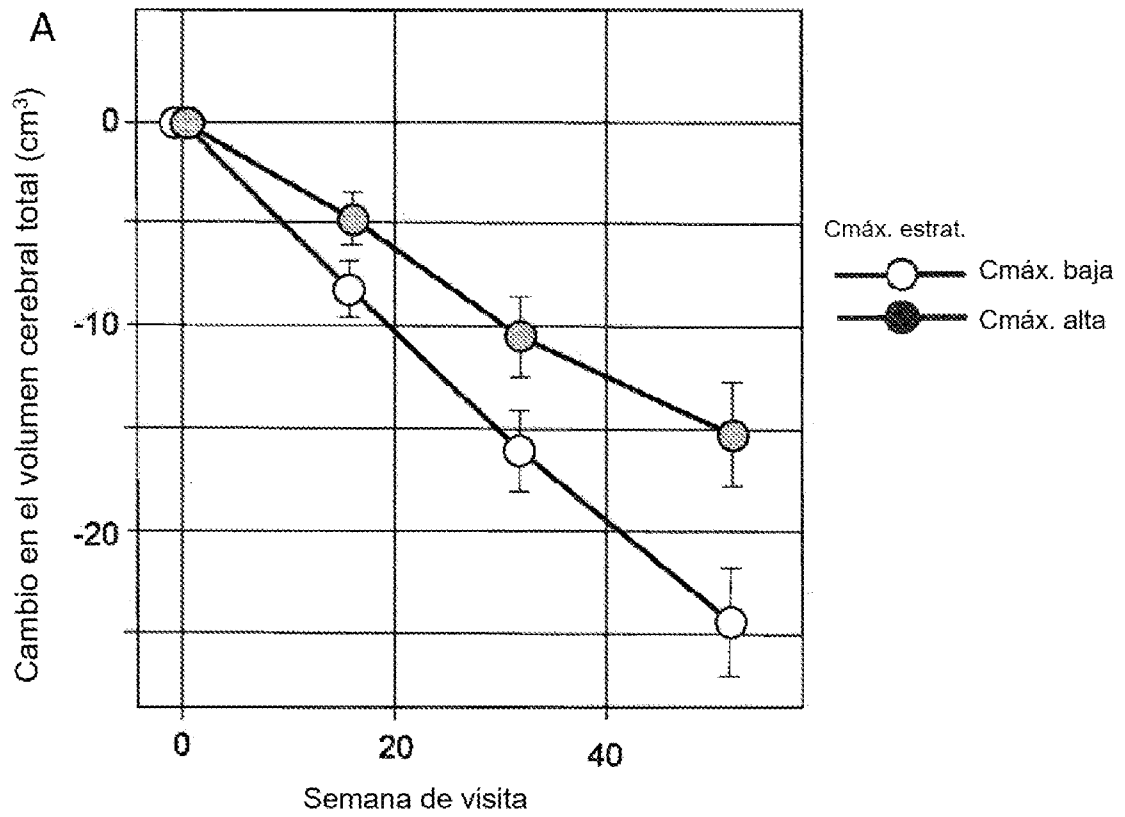


Figura 11a, b y c



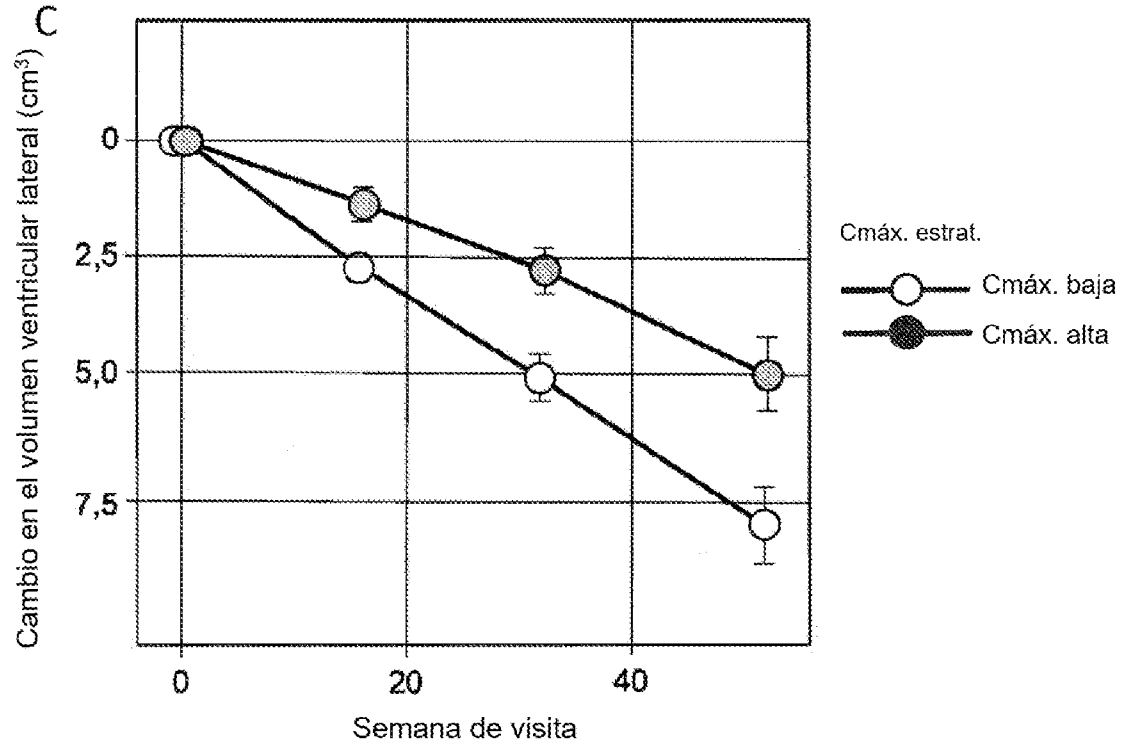


Figura 12

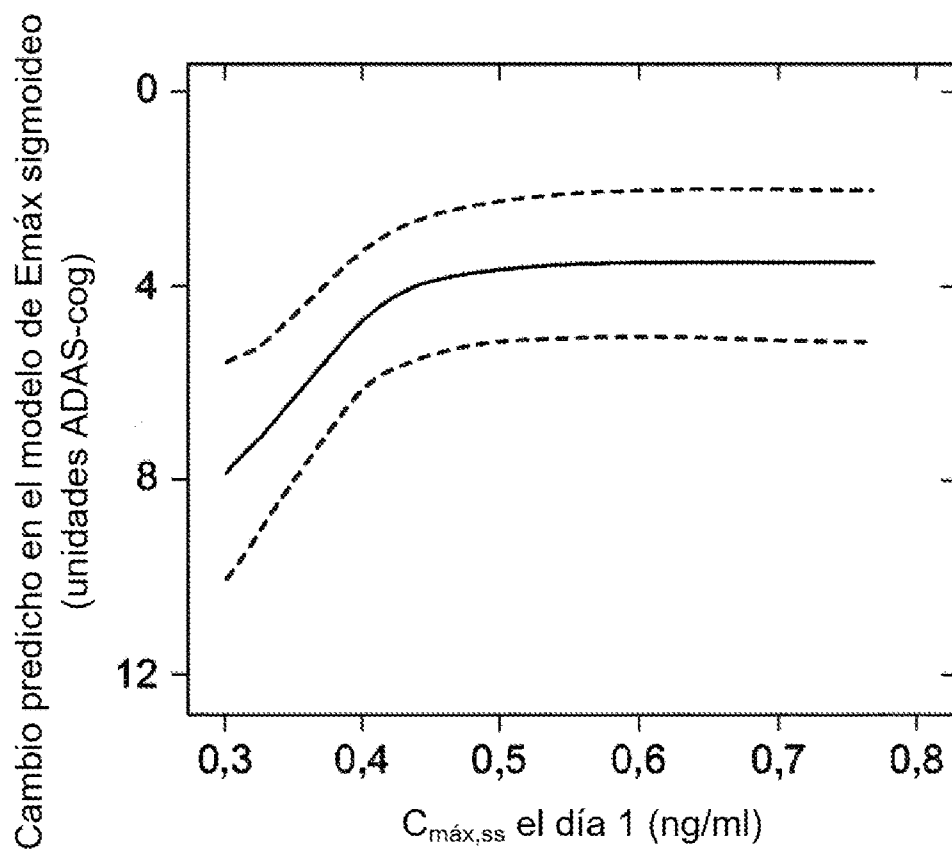


Figura 13

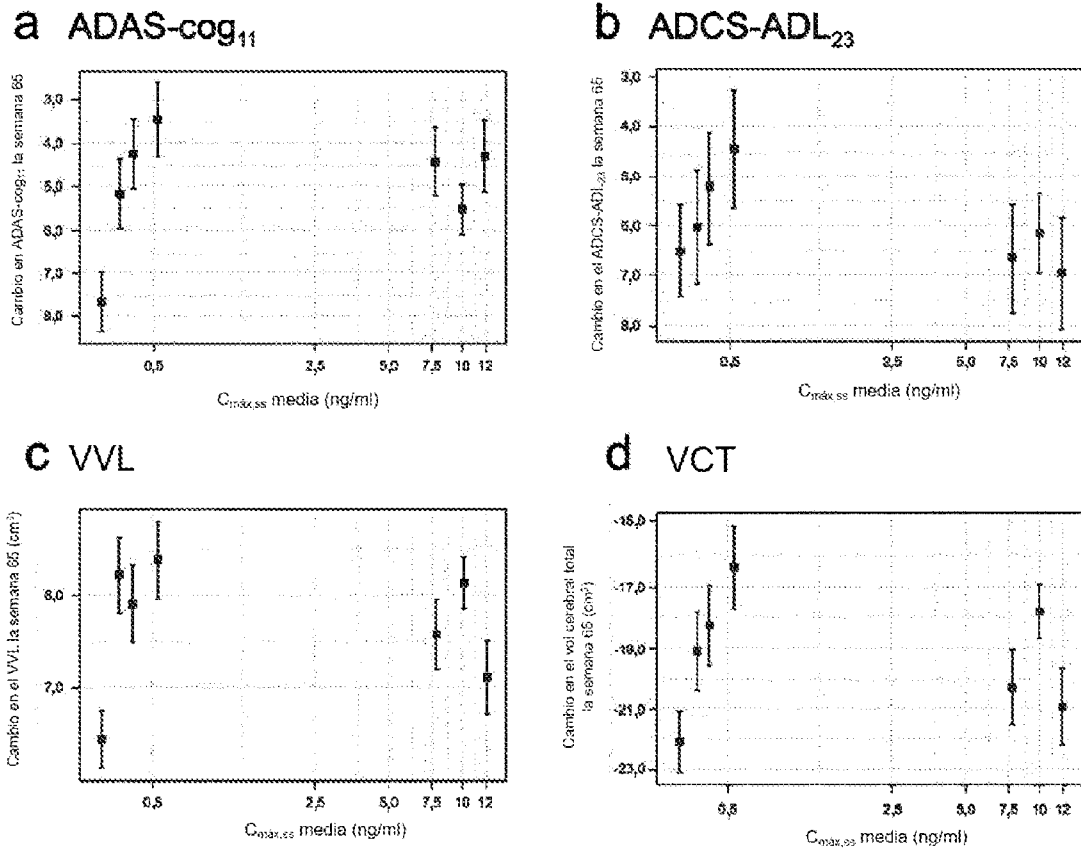


Figura 14

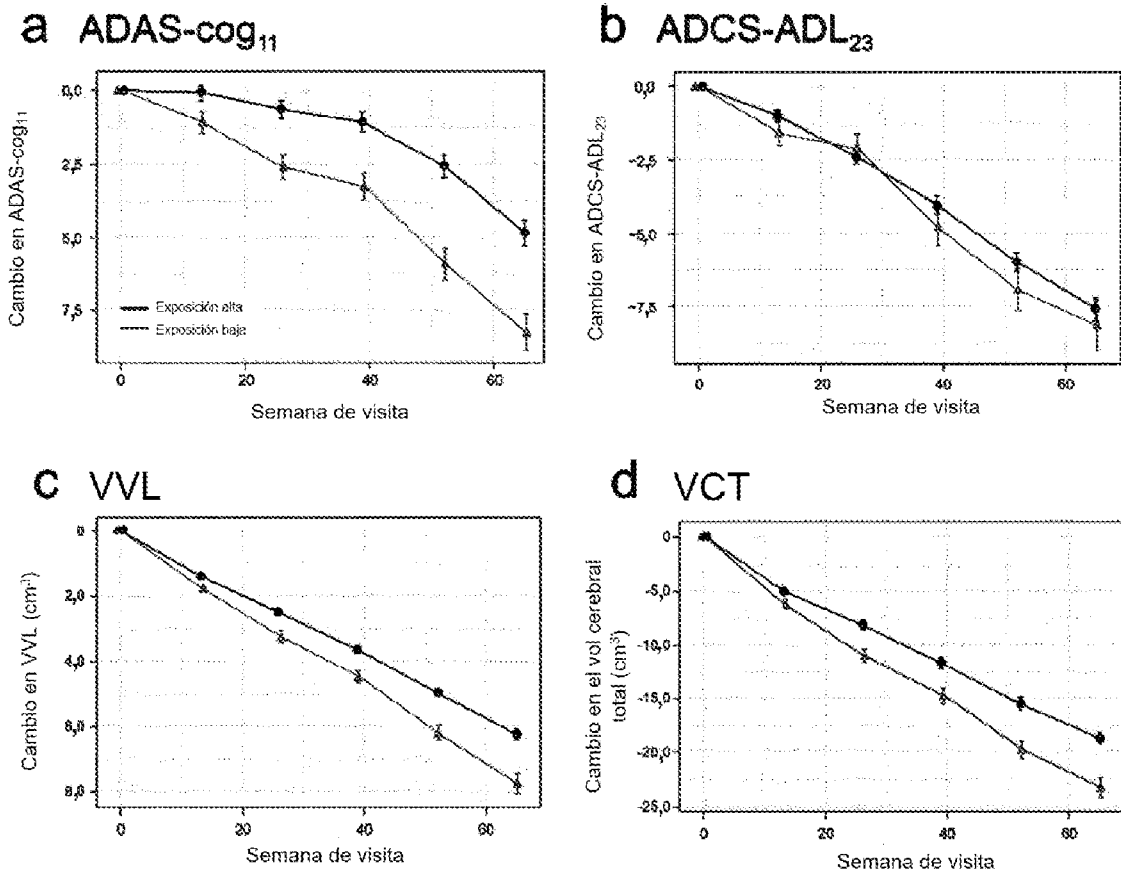


Figura 15

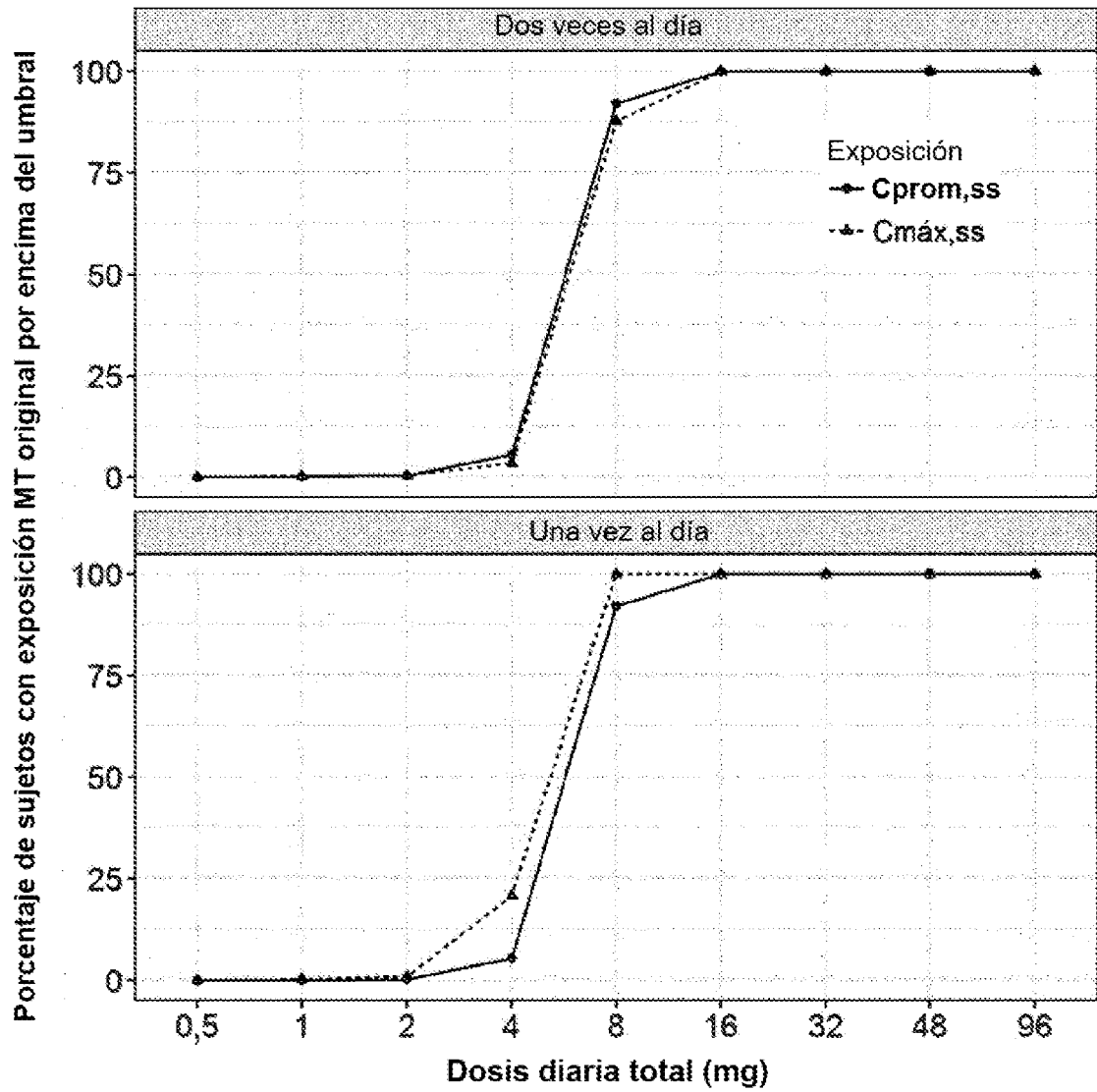
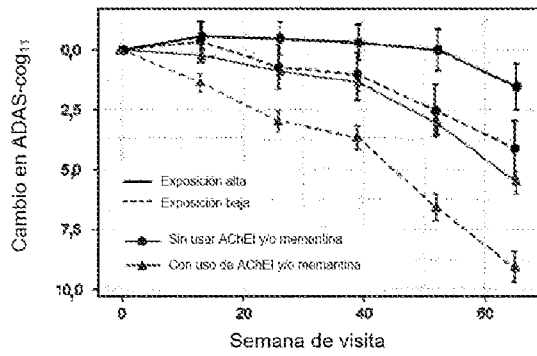
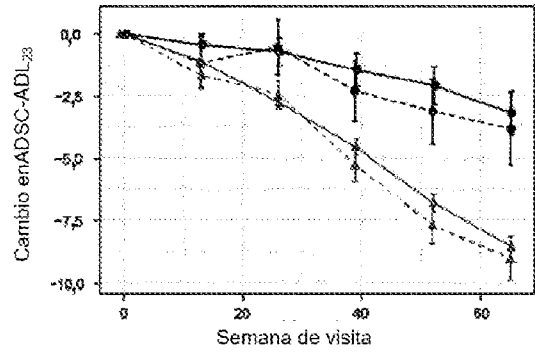


Figura 16

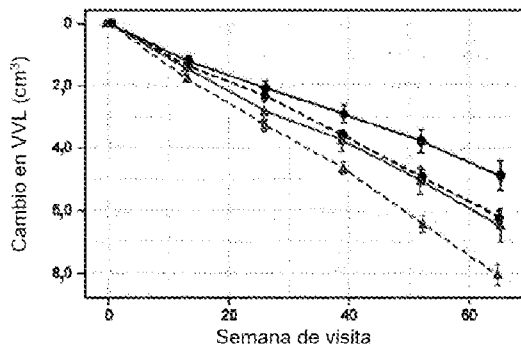
a ADAS-cog₁₁



b ADCS-ADL₂₃



c VVL



d VCT

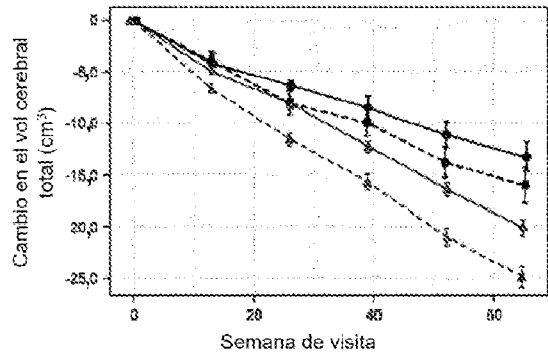


Figura 17

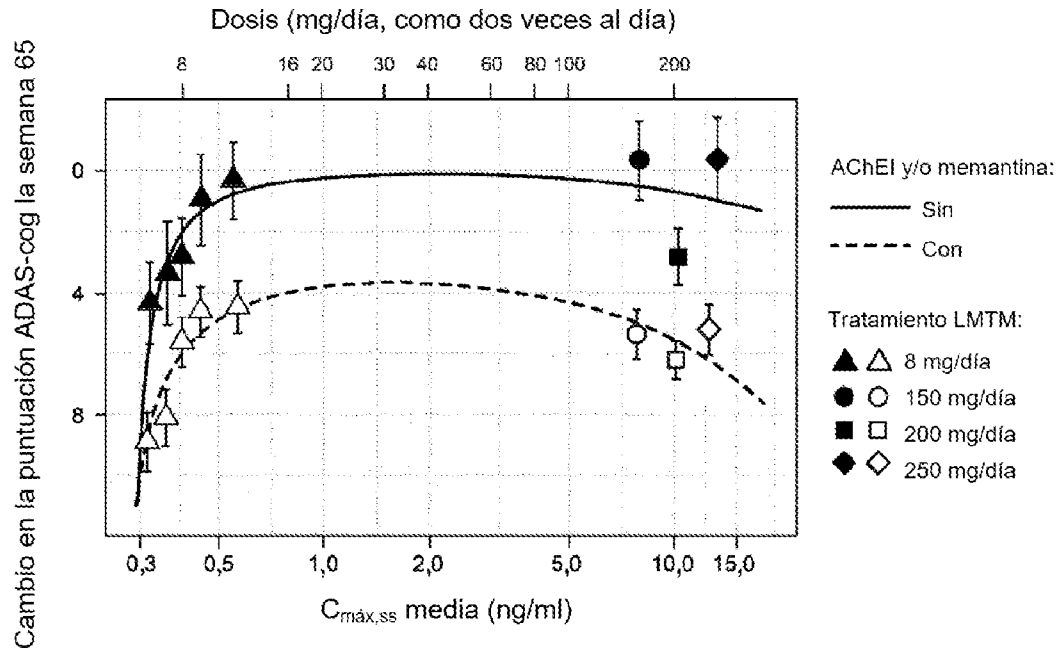


Figura 18

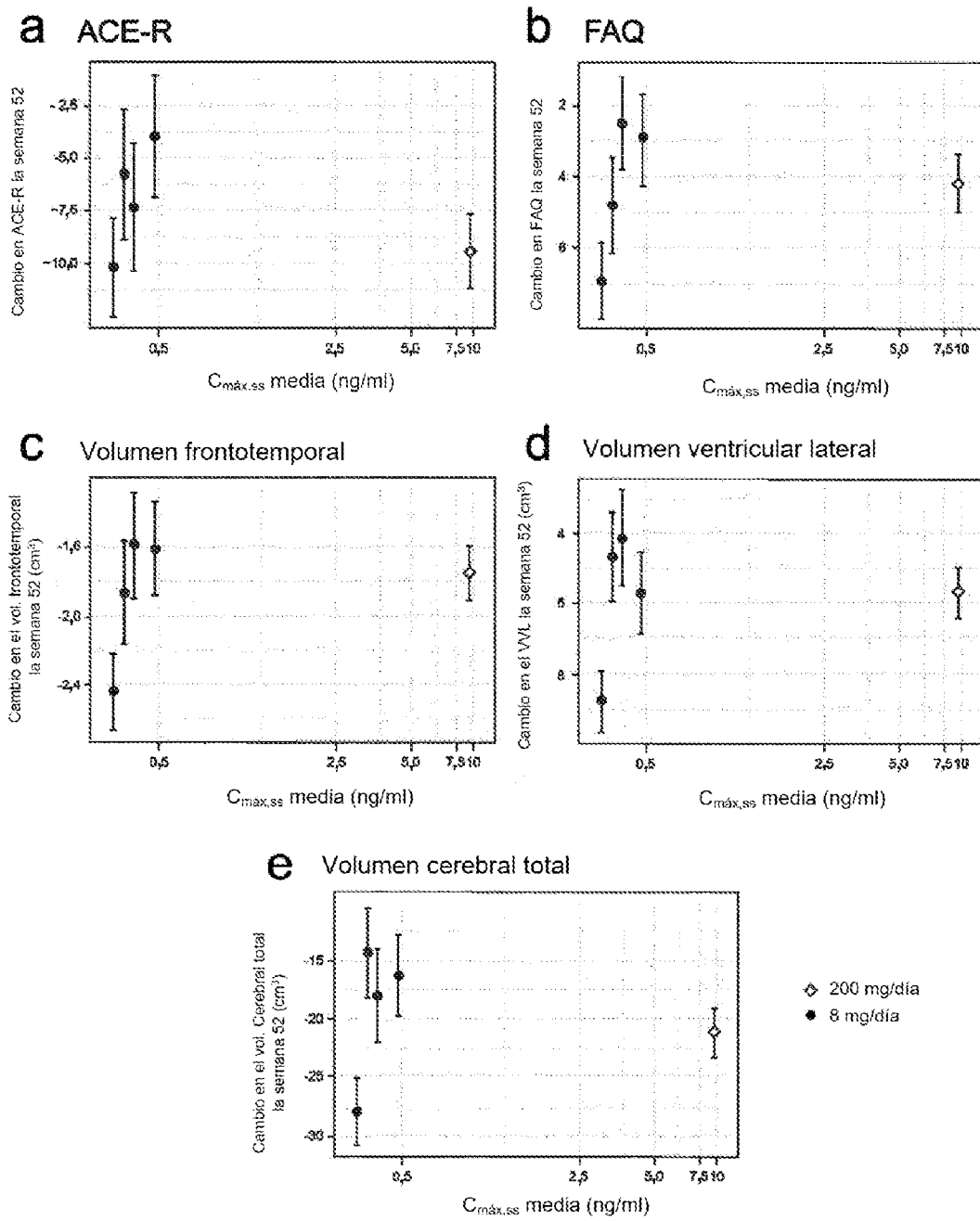


Figura 19

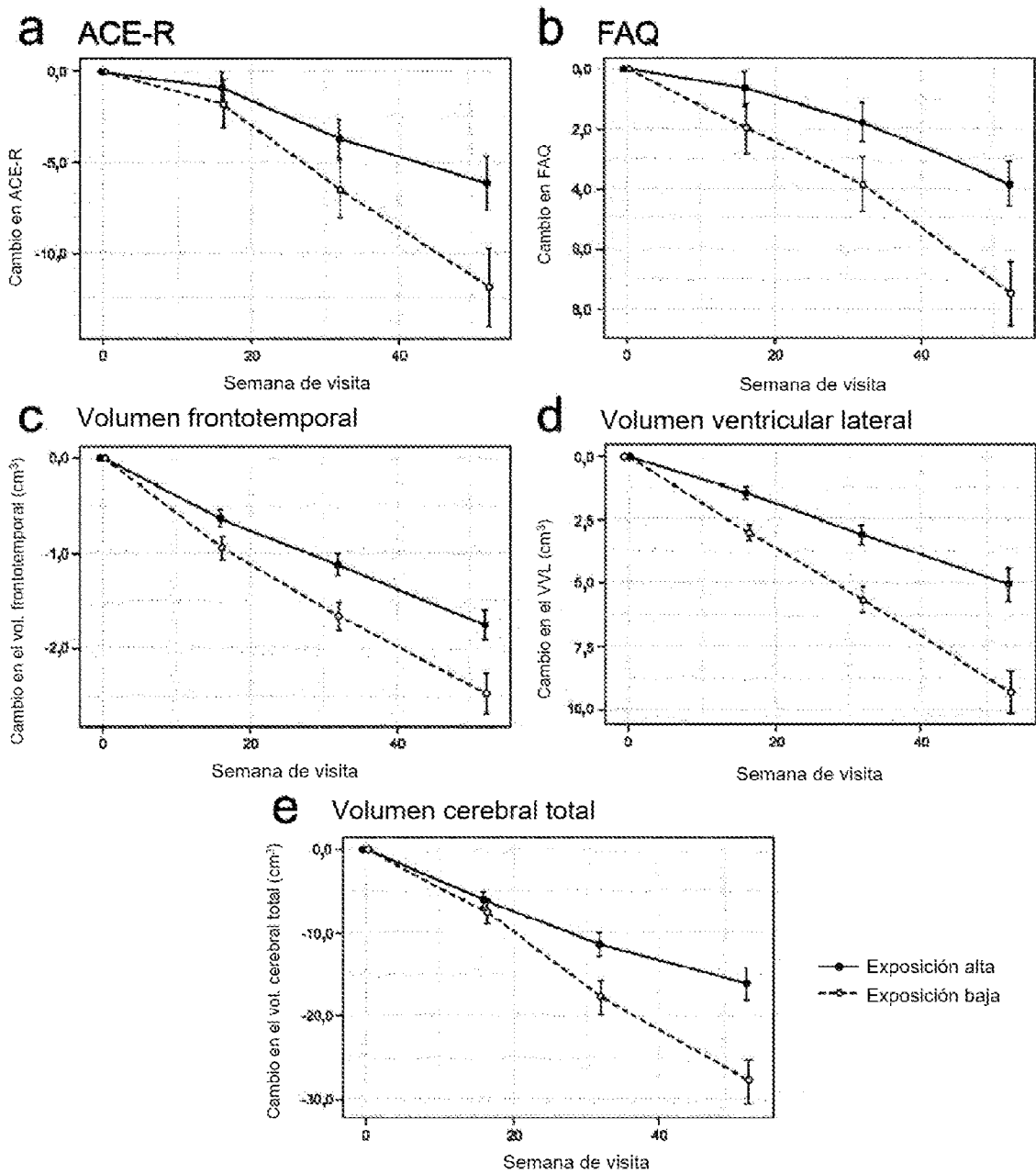


Figura 20

