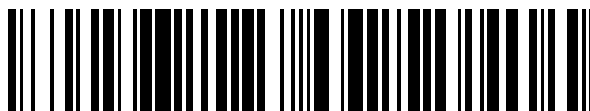


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 924**

51 Int. Cl.:

A61K 31/132 (2006.01) **A61P 29/02** (2006.01)

A61K 31/137 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/216 (2006.01)

A61K 31/44 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61K 31/522 (2006.01)

A61P 25/02 (2006.01)

A61K 31/136 (2006.01)

A61K 31/13 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09720431 .7**

96 Fecha de presentación: **16.01.2009**

97 Número de publicación de la solicitud: **2252278**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **24.11.2010**

54

Título: **AGONISTAS BETA-2 ADRENÉRGICOS PARA SU UTILIZACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE LA ALODINIA NEUROPÁTICA CRÓNICA.**

30

Prioridad:
18.01.2008 FR 0800273
26.02.2008 EP 08003458
14.11.2008 EP 08291065

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.03.2012

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.03.2012

73

Titular/es:
Centre National de la Recherche Scientifique - CNRS
3, rue Michel-Ange
75794 Paris Cedex 16, FR

72

Inventor/es:
BARROT, Michel;
YALCIN, Ipek;
FREUND-MERCIER, Marie-José;
BENBOUZID, Malika y
CHOUCAIR-JAAFAR, Nada

74

Agente: **Izquierdo Faces, José**

ES 2 375 924 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

Agonistas beta-2 adrenérgicos para su utilización en el tratamiento de la alodinia neuropática crónica.

Campo técnico de la invención

[0001] La presente invención se refiere a la utilización, como principios activos, de compuestos que son agonistas de receptores beta adrenérgicos para la fabricación de medicamentos para el tratamiento de los dolores neuropáticos, particularmente la alodinia neuropática crónica.

[0002] El principal campo de aplicación de la presente invención es biomédico y, más exactamente, terapéutico. La invención se aplica en clínica humana y veterinaria.

[0003] La presente invención pretende proporcionar, particularmente, medicamentos que puedan sustituir a los tratamientos utilizados actualmente para tratar el dolor.

[0004] En la siguiente descripción, las referencias entre paréntesis (x) remiten a la lista de referencias situada al final de los ejemplares.

Técnica anterior

[0005] Según un estudio clínico reciente (Bouhassira y col., Pain, 2008, 136: 380-387 (1)), los dolores crónicos con componente neuropático tienen en Francia una prevalencia del 6,9% en la población general, lo que afecta en Francia a aproximadamente 4 millones de personas.

[0006] Los dolores neuropáticos son enfermedades en general crónicas vinculadas a una disfunción o a una lesión del sistema nervioso como se describe en Merksey y Bogduk (1994) (2). Éstas implican modificaciones moleculares duraderas. Los tratamientos eficaces a largo plazo pasan también por una plasticidad del sistema nervioso: son ineficaces los primeros días, y después alivian el dolor.

[0007] El tratamiento de los dolores neuropáticos crónicos es difícil de tratar clínicamente ya que la mayor parte de los tratamientos analgésicos convencionales son ineficaces con el tiempo. Éste es particularmente el caso de los opiáceos para los cuales se desarrolla una tolerancia a los efectos.

[0008] El tratamiento farmacológico de los dolores neuropáticos persistentes actualmente utiliza principalmente anticonvulsivos, por ejemplo pregabalina o gabapentina; o antidepresivos de tipo tricíclico, por ejemplo amitriptilina, nortriptilina, clomipramina, imipramina, desipramina, o antidepresivos de tipo inhibidor mixto de la recaptura de serotonina y de noradrenalina, por ejemplo duloxetina, venlafaxina. Actualmente, anticonvulsivos y antidepresivos son las 2 opciones de prescripción recomendadas en diversos países como primera línea de tratamiento para luchar contra los dolores neuropáticos (McQuay y col., 1996, Pain 68: 217-227 (3); Hempenstall y col. PLoS Med, 2005, 2: e164 (4); Gilron y col., CMAJ, 2006, 175: 265-275 (5); Attal y col., European Journal of Neurology, 2006, 13: 1153-1169 (6); Moulin y col., Pain Research Management, 2007, 12: 13-21 (7); Dworkin y col., Pain, 2007, 132: 237-251 (8)).

El documento EP1813285 describe una agonista alfa-2 adrenérgico en combinación con un agonista beta-2 adrenérgico para el tratamiento del dolor neuropático.

Los documentos WO 2005/08741 y WO 2006/027579 describen la utilización de beta-aminoalcoholes para el tratamiento de enfermedades y de dolores inflamatorios.

[0009] Como para la mayor parte de las enfermedades crónicas que afectan al sistema nervioso, ningún medicamento disponible es a la vez eficaz y tolerado en el conjunto de los pacientes.

[0010] Por ejemplo, si los antidepresivos son eficaces, su utilización plantea en efecto algunos problemas:

1) Efectos psicológicos: algunos pacientes con dolor aceptan mal la prescripción de un "antidepresivo" conocido por tratar trastornos psiquiátricos, aunque no sean depresivos;

2) Efectos secundarios que pueden ser mal tolerados y que afectan a aproximadamente al 30% de los pacientes (McQuay y col., 1996 (3)): por ejemplo somnolencia o sedación, trastornos de la visión, estreñimiento, retención urinaria o disuria, sequedad de boca, hipersudación, aumento de peso, taquicardia o arritmia cardíaca, hipotensión ortostática, impotencia, temblores, crisis convulsivas, confusión mental, aumento de la agresividad, paranoia y comportamientos suicidas, aumento del volumen mamario, galactorrea, reacciones alérgicas cutáneas, disartria, eosinofilia, leucopenia, agranulocitosis, trombopenia, síncope;

3) Falta de especificidad de acción: El antidepresivo al aumentar las tasas extracelulares de monoaminas, (como adrenalina, noradrenalina y serotonina) actúa sobre el conjunto de los adrenorreceptores así como sobre los receptores serotoninérgicos, tengan o no estos diferentes receptores influencia sobre el dolor neuropático;

4) Variabilidad de la acción entre los pacientes: los antidepresivos solamente son eficaces sobre una fracción de los pacientes (entre el 30 y el 50% de los pacientes) (McQuay, 1996 (3); Attal y col., 2006 (6)).

[0011] Es esencial para el facultativo disponer de una gama más diversa de medicamentos que la conocida actualmente para proponer al paciente el que esté mejor adaptado a su caso.

- 5 **[0012]** Existe, por lo tanto, una necesidad real de nuevas moléculas utilizables para el tratamiento del dolor, más eficaces, mejor tolerados, mejor aceptados y que tengan una acción más específica.

- 10 **[0013]** Actualmente se utilizan otros tratamientos del dolor neuropático, por ejemplo las técnicas de neuroestimulación, técnicas de cirugía, técnicas de acupuntura y psicoanálisis. Pero estas técnicas necesitan la intervención repetida del/de los facultativos y eventualmente una hospitalización, son difíciles de aplicar, largas y/o no siempre satisfactorias.

Exposición de la invención

- 15 **[0014]** La presente invención responde de forma precisa a esta necesidad y resuelve los inconvenientes de la técnica anterior.

- 20 **[0015]** Durante los más de 30 años que se han utilizado los antidepresivos en clínica para aliviar los dolores neuropáticos, aún no se había previsto nunca que los agonistas de los receptores beta adrenérgicos pudieran tener el mismo efecto y pudieran sustituir a los antidepresivos para aliviar de forma duradera el dolor neuropático. Esta situación resulta sin duda del desconocimiento del mecanismo de acción preciso de los antidepresivos sobre el dolor que se suponía vinculado a los alfa2-adrenorreceptores. En efecto, cuando se toman de forma aguda, los agonistas de los alfa2-adrenorreceptores pueden facilitar la analgesia y se utilizan de forma rutinaria como terapia asociada durante el tratamiento del dolor perioperatorio (Crassous y col., 2007, Current Topics in Medicinal Chemistry 7: 187-194 **(9)**). Parecía, por lo tanto, sencillo y natural imaginar que también eran responsables del efecto de los antidepresivos, aunque esto no se había demostrado nunca. Se ha demostrado que éste no era el caso y que en realidad los adrenorreceptores cruciales para el efecto terapéutico de los antidepresivos sobre el dolor neuropático son los beta2-adrenorreceptores.

- 30 **[0016]** Los inventores de la presente han identificado los adrenorreceptores responsables del efecto terapéutico de los antidepresivos contra el dolor neuropático crónico. Se trata de los adrenorreceptores de la familia beta, y particularmente aquellos del subtipo beta2. En un modelo murino de dolor neuropático, hicieron, en efecto, desaparecer la acción terapéutica de los antidepresivos bloqueando los adrenorreceptores beta o beta2. Además, la sola administración de diversos agonistas beta2-adrenérgicos o beta-adrenérgicos basta para aliviar la alodinia neuropática en este modelo. La alodinia, que es una sensación dolorosa en respuesta a un estímulo que no debería ser doloroso, es un síntoma importante de dolores neuropáticos. Los agonistas beta2-adrenérgicos y, de forma más amplia, los agonistas beta adrenérgicos, pueden, por lo tanto, permitir tratar los dolores neuropáticos y ofrecen una alternativa más específica a la utilización actual de los antidepresivos.

- 40 **[0017]** Además, la presente invención se refiere a la utilización de un agonista beta adrenérgico como principio activo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la alodinia neuropática crónica, en otras palabras para su utilización en el tratamiento de la alodinia neuropática crónica, estando dicho agonista beta-2 adrenérgico administrado de manera crónica.

- 45 **[0018]** Por "dolor neuropático" se entiende los dolores vinculados a una disfunción y/o a una lesión de uno cualquiera de los elementos constitutivos de las vías nociceptivas como se describe en Merksey y Bogduk (1994) (2). Esto comprende, por ejemplo, los dolores consecutivos a las lesiones o irritaciones de los nervios periféricos (ya haya un ataque axonal y/o mielínico), de la médula espinal, de las estructuras supraespinales. La lesión o la disfunción puede ser, por ejemplo, de origen mecánico, por ejemplo post-traumático; post-quirúrgico; por ejemplo vinculado a una lesión nerviosa bajo una cicatriz, como es el caso en un síndrome post-toracotomía; a una algoalucinosi en una amputación de un miembro; a una compresión de nervios en los síndromes canales; a una compresión radicular en una radiculopatía por hernia discal, situación que puede estar acompañada por una componente inflamatoria; a una sección o un traumatismo de la médula que da los dolores de las paraplejías; por ejemplo de origen metabólico, por ejemplo neuropatía de alcoholismo, de diabetes, de distiroidías; neuropatías carenciales; por ejemplo de origen isquémico, por ejemplo vinculada a una isquemia arterial periférica, una isquemia de la médula espinal, un accidente cerebrovascular; por ejemplo de origen tóxico, por ejemplo vinculado a medicamentos, por ejemplo quimioterapias anticancerosas a base de derivados de la vincapervinca, de sales de platino; a amiodarona; a tóxicos industriales, por ejemplo acrilamida, colas, etc.; por ejemplo de origen infeccioso, por ejemplo VIH, herpes, varicela, zona; por ejemplo de origen inmuno-alérgico, por ejemplo neuropatías paraneoplásicas, síndrome de Guillain-Barré; por ejemplo de origen hereditario, por ejemplo neuropatías de fibras finas.

- 65 **[0019]** De acuerdo con la invención, el agonista beta2 adrenérgico puede ser una molécula menos específica que posee, entre otras, una acción de agonista beta2 adrenérgico.

[0020] De acuerdo con la invención, el agonista beta2 adrenérgico puede seleccionarse, por ejemplo, entre el grupo

que comprende bambuterol, bitolterol, clembuterol, fenoterol, formoterol, isoproterenol (o isoprenalina), levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, procaterol, reproterol, ritodrina, salbutamol (o albuterol), salmeterol, terbutalina o tulobuterol. Por agonista; se entiende también en la presente, las sales farmacéuticamente aceptables de los agonistas mencionados anteriormente y/o de las mezclas de estos agonistas y/o de sus sales farmacéuticamente aceptables.

[0021] Sales farmacéuticamente aceptables, en el sentido de la presente invención, son por ejemplo clorhidratos, sulfatos, bromuros, hidratos de bromuros, hidratos (por ejemplo dihidratos, trihidratos, tetrahidratos y otros), sales de sodio, fumaratos, tartratos, mesilatos, nitratos, dinitratos, maleatos, acetatos, citratos, propionatos, xinafoatos o hidroxinafoatos.

[0022] De acuerdo con la invención, el medicamento puede ser para uso humano o veterinario.

[0023] De acuerdo con la invención, el medicamento puede estar en cualquier forma apropiada para poder administrarlo a un paciente o a un animal. La administración puede realizarse directamente, es decir a partir del agonista puro o prácticamente puro o de una sal farmacéuticamente aceptable del agonista puro o prácticamente puro, o en mezcla con un soporte farmacéuticamente aceptable o en un medio farmacéuticamente aceptable. El medicamento puede ser, por lo tanto, el agonista, o una sal de éste, en forma pura o prácticamente pura, o el agonista en un disolvente apropiado o también en una forma galénica apropiada para su administración a un paciente o un animal y para su absorción por un paciente o un animal.

[0024] El medicamento puede estar, por ejemplo, en una forma seleccionada entre el grupo que comprende una forma inyectable (por ejemplo, VENTOLINE (marca registrada)), un jarabe (por ejemplo, ATARAX (marca registrada)), una solución oral (por ejemplo, EFFERALGAN (marca registrada) 3%), un comprimido (por ejemplo, ASPIRINE DU RHONE (marca registrada) [aspirina]), un comprimido divisible (por ejemplo, CLARADOL (marca registrada)), un comprimido recubierto con película (por ejemplo, APRANAX (marca registrada)), un comprimido recubierto con película divisible (por ejemplo, ZYRTECSET (marca registrada)), un comprimido gastrorresistente (por ejemplo, ASPIRINE (marca registrada) PH 8-500 mg cp gastrorésis), un comprimido recubierto (por ejemplo FERVEX (marca registrada)), un comprimido dispersable (por ejemplo, SPASMOCALM (marca registrada)), un comprimido masticable (por ejemplo, RENNIE (marca registrada)), un envase tipo blister termoformado (por ejemplo VENTODISKS (marca registrada)), una cápsula de gelatina dura (por ejemplo, POLYPRINE (marca registrada) gel), un producto efervescente (por ejemplo, EFFERALGAN (marca registrada)), un comprimido efervescente divisible (por ejemplo, PREDNISOLONE ARROW (marca registrada)), un polvo para solución oral (por ejemplo, DOLIPRANE (marca registrada)), gránulos para suspensión oral (por ejemplo, APRANAX (marca registrada)), una suspensión para inhalación (por ejemplo, AIROMIR AUTOHALER (marca registrada)), un polvo para inhalación (por ejemplo, ASMELOX NOVALIZER (marca registrada)), una solución para inhalación por nebulizador (por ejemplo, SALBUTAMOL ARROW (marca registrada)), un polvo para inhalación en cápsula de gelatina dura, (por ejemplo, FORADIL (marca registrada)), un supositorio (por ejemplo, DOLIPRANE (marca registrada)), un colirio (por ejemplo, RIFAMYCINE CHIBRET (marca registrada)), una crema (por ejemplo, FUCIDINE (marca registrada) 2%), una pomada (por ejemplo, MUPIDERM (marca registrada)), un gel (por ejemplo, FINACEA (marca registrada)), un pulverizado (por ejemplo, NASONEX (marca registrada)), un dispositivo transdérmico o parche (por ejemplo, DUROGESIC (marca registrada)), una pastilla (por ejemplo, STREPSILS (marca registrada)), una solución para perfusión intravenosa (por ejemplo SALBUTAMOL MERCK (marca registrada)), para administración peridural o intra-peri-articular o periférica o regional o paravertebral (por ejemplo LIDOCAINE ADRENALINE AGUETANT (marca registrada) 2% SOLUCIÓN INYECTABLE), o administración intratecal (por ejemplo BUPIFORAN (marca registrada) 0,25% SOLUCIÓN INYECTABLE), o infiltración, por ejemplo por infiltración local (por ejemplo BUPIVACAINE AGUETTANT (marca registrada) 0,25% SOLUCIÓN INYECTABLE). En estos ejemplos, el agonista puede añadirse o sustituir a los principios activos de los medicamentos mencionados. Las composiciones de cada uno de estos medicamentos pueden encontrarse, por ejemplo, en el Diccionario VIDAL, Edición de 2007.

[0025] El soporte farmacéuticamente aceptable puede ser, por ejemplo, cualquier soporte farmacéuticamente aceptable conocido utilizado para la administración de los agonistas mencionados anteriormente a un ser humano o a un animal, según el uso del medicamento. Por ejemplo, el soporte puede seleccionarse entre el grupo que comprende povidona, sílice coloidal, talco, celulosa microcristalina, lactosa monohidrato, gelatina, lecitina, almidón, crospovidona, glicerol, parafina, butilhidroxianisol, vaselina, lanolina y goma arábica.

[0026] El medio farmacéuticamente aceptable puede ser cualquier medio conocido que convenga a la administración de un agonista tal como se define en la presente a un ser humano o a un animal. Este medio puede ser, por ejemplo, etanol, sacarosa, glicerol, propilenglicol, sacarina sódica, acetato de sodio, ácido acético, agua, una solución fisiológica, parafina líquida, butilhidroxianisol, vaselina, lanolina y goma arábica.

[0027] Por "administración crónica" o "tratamiento crónico", se entiende en la presente una toma repetida o mantenida durante al menos varios días, por ejemplo varias semanas, por ejemplo varios meses, por ejemplo varios años. Por ejemplo, una administración crónica puede consistir en varias tomas o administración del medicamento en una cualquiera de sus formas descritas anteriormente; o en una toma única o repetida del medicamento en una forma con duración de acción larga o con duración de acción mantenida en el tiempo, como por ejemplo una

perfusión o un dispositivo transdérmico. Por ejemplo, una administración crónica puede conducir a una, dos, tres o más tomas o administraciones al día, por ejemplo durante un día, dos días, tres días, etc., por ejemplo una semana, dos semanas tres semanas, etc., por ejemplo un mes, dos meses, tres meses, etc., por ejemplo un año, dos años, tres años, etc.

5

[0028] De acuerdo con la invención, el medicamento puede comprender cualquier dosis de agonista farmacéuticamente aceptable y eficaz en la implementación de la presente invención. Por ejemplo, el medicamento puede comprender una dosis que permita una administración, por ejemplo en el ser humano que varía entre 0,01 y 120 mg/día, por ejemplo de 0,01 a 20 mg/día. Esto puede comprender, por ejemplo, dosis de 10 a 20 mg/día para bambuterol, o de 0,02 a 0,2 mg/día para clembuterol, o de 0,05 a 0,8 mg/día para fenoterol, o de 0,01 a 0,05 mg/día para formoterol, o de 0,2 a 10 mg/día para isoproterenol (o isoprenalina), o de 0,2 a 3 mg/día para pirbuterol, o de 0,05 a 72 mg/kg para ritodrina, por ejemplo de 0,05 a 120 mg/día, o de 0,1 a 36 mg/día para salbutamol, o de 0,025 a 0,1 mg/día para salmeterol, de 0,5 a 13,5 mg/día para terbutalina, 0,5 a 60 mg/día para metaproterenol, de 0,3 a 4 mg/día para levalbuterol, de 0,5 a 12 mg/día para reproterol, de 1 a 6 mg/día para tulobuterol, de 0,5 a 10 mg/día para bitolterol. Se trata, por supuesto, de ejemplos, las dosis podrán adaptarse particularmente en función de la sensibilidad de los pacientes a este tratamiento y del modo de administración.

10

15

[0029] La presente invención también **describe** un procedimiento de tratamiento de la alodinia neuropática crónica, comprendiendo este procedimiento la administración a un paciente de un agonista tal como se ha definido anteriormente. El paciente puede ser humano o animal. Los agonistas utilizables y las formulaciones se dan como ejemplo anteriormente.

20

[0030] La administración puede realizarse mediante cualquier medio conocido por el especialista en la técnica, en particular mediante cualquier medio conocido para la administración de los agonistas mencionados anteriormente. Los ejemplos de modos de administración se han descrito anteriormente.

25

[0031] Por ejemplo, la administración puede realizarse mediante inyección directa del agonista, o mediante perfusión, mediante toma oral en forma particularmente de jarabe, de solución oral, de comprimido, de comprimido efervescente o recubierto con película, o divisible, o recubierto, o gastroresistente, o dispersable, o masticable, de pastilla termoformada, de cápsula de gelatina dura, de pastilla, de polvo o de gránulos para solución oral, mediante utilización de una suspensión o de un polvo para inhalación, de un polvo para inhalación en cápsula de gelatina dura, de una solución para inhalación por nebulizador, mediante una toma de supositorio, mediante utilización de colirio, mediante utilización de crema, de pomada o de gel, mediante utilización de un pulverizado, mediante utilización de dispositivos transdérmicos, mediante administración o infiltración o perfusión peridural o intra- o peri-articular o regional o periférica o intratecal o paravertebral o local. Los ejemplos de composiciones utilizables para estas diferentes vías de administración se han descrito anteriormente.

30

35

[0032] La administración puede definirse para permitir un suministro farmacéuticamente aceptable y eficaz para tratar el dolor, en particular el dolor neuropático. Por ejemplo, la administración puede comprender una dosis, por ejemplo, en el ser humano que varía entre 0,01 y 120 mg/día, por ejemplo de 0,01 a 20 mg/día. Ésta puede comprender, por ejemplo, dosis de 10 a 20 mg/día para bambuterol, o de 0,02 a 0,2 mg/día para clembuterol, o de 0,05 a 0,8 mg/día para fenoterol, o de 0,01 a 0,05 mg/día para formoterol, o de 0,2 a 10 mg/día para isoproterenol (o isoprenalina), o de 0,2 a 3 mg/día para pirbuterol, o de 0,05 a 72 mg/kg para ritodrina, por ejemplo de 0,05 a 120 mg/día, o de 0,1 a 36 mg/día para salbutamol, o de 0,025 a 0,1 mg/día para salmeterol, de 0,5 a 13,5 mg/día para terbutalina. Se trata, por supuesto, de ejemplos, las dosis podrán adaptarse, particularmente en función de la sensibilidad de los pacientes a este tratamiento.

40

45

[0033] La administración puede realizarse de una sola vez o en varias veces.

[0034] La administración de agonistas beta adrenérgicos de acuerdo con el procedimiento descrito en la presente es una administración crónica.

50

[0035] Las dosis de agonistas beta adrenérgicos administrados, por ejemplo de forma crónica, pueden estar comprendidas entre 0,01 y 20 mg/día, por ejemplo entre 0,05 y 15 mg/día, por ejemplo entre 0,05 y 10 mg/día, por ejemplo entre 0,1 y 5 mg/día, o también por ejemplo entre 0,15 y 350 µg/kg y al día, por ejemplo entre 0,8 y 250 µg/kg y al día, por ejemplo entre 0,8 y 170 µg/kg y al día, por ejemplo entre 1,5 y 90 µg/kg y al día.

55

[0036] La acción de los agonistas beta o beta2-adrenérgicos en la utilización de acuerdo con la presente invención es más precisa a nivel molecular que la de los antidepresivos para tratar la alodinia neuropática crónica, ya que estos agonistas pueden actuar directamente sobre el receptor responsable del efecto terapéutico sin afectar a los otros receptores adrenérgicos. Esta acción más específica reduce ciertamente los efectos secundarios indeseables.

60

[0037] La presente invención **también describe** la utilización de agonistas beta-adrenérgicos para el tratamiento de la alodinia neuropática crónica de larga duración. En efecto, los datos experimentales obtenidos por los inventores a partir de su modelo de dolor neuropático, particularmente de alodinia neuropática, extremadamente próximo a la clínica humana, muestran claramente una mejoría importante de los síntomas dolorosos después del tratamiento

65

con dichas moléculas.

[0038] Además, estas moléculas ya se utilizan en clínica humana para tratar otras afecciones, lo que facilita y sobre todo hace más rápidos los primeros ensayos terapéuticos sobre los dolores neuropáticos. Las perspectivas terapéuticas son, por lo tanto, inmediatas. Numerosas moléculas agonistas beta o beta2-adrenérgicos ya han obtenido una autorización de comercialización y se utilizan habitualmente en el marco de otras patologías, esencialmente crisis de asma o enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, o para inhibir las contracciones uterinas. Sin embargo, estas moléculas aún no se han ensayado nunca contra la alodinia neuropática crónica. La existencia de estas autorizaciones hace que los ensayos clínicos sobre los efectos secundarios hayan sido ya realizados y debería favorecer/acelerar potencialmente a menor coste el paso a los ensayos y a la utilización clínica en el marco de los dolores neuropáticos.

[0039] Por otro lado, la eficacia de un tratamiento crónico depende en gran medida de la aceptación y del seguimiento del tratamiento crónico por parte del paciente. Psicológicamente, puede ser más fácil de aceptar ser tratado/a con una molécula conocida por ser prescrita contra el asma que por una molécula con objetivos psiquiátricos conocida por ser prescrita contra la depresión.

[0040] Otras ventajas podrán ser evidentes para el especialista en la técnica con la lectura de los siguientes ejemplos, que se dan, por supuesto, a título ilustrativo y no limitante en referencia a las figuras adjuntas.

Breve descripción de las figuras

[0041] La figura 1 es un gráfico que muestra el efecto de una solución salina ("Sal") o de Nortriptilina ("Nor") sobre ratones de control ("Sham") sin manguito o neuropáticos con manguito ("Cuff") descritos en los ejemplos 1 y 2. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0042] La figura 2 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento con una solución salina ("Sal") o de Nortriptilina ("Nor") y con el antagonista alfa2-adrenérgico yohimbina o el antagonista beta adrenérgico propranolol, descrito en el ejemplo 3. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0043] La figura 3 comprende 2 gráficos. El primero muestra en animales neuropáticos el efecto de un co-tratamiento de Nortriptilina y del antagonista beta1-adrenérgico metoprolol, del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 o del antagonista beta3-adrenérgico SR59230A, descrito en los ejemplos 4, 5 y 6. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g). El segundo gráfico detalla el efecto de un co-tratamiento de Nortriptilina y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551, descrito en el ejemplo 5. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0044] La figura 4 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de la primera inyección ("inyección en dosis única") de clenbuterol descrito en el ejemplo 7. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en minutos después de la inyección.

[0045] La figura 5 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con clenbuterol ("Clem") descrito en el ejemplo 7. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0046] La figura 6 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de clenbuterol y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 descrito en el ejemplo 8. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0047] La figura 7 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de la primera inyección ("inyección en dosis única") de bambuterol descrito en el ejemplo 9. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en minutos después de la inyección.

[0048] La figura 8 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con bambuterol descrito en el ejemplo 9. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0049] La figura 9 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con fenoterol, descrito en el ejemplo 10. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0050] La figura 10 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con formoterol a la dosis de 0,5 mg/kg descrito en el ejemplo 11. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0051] La figura 11 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de la primera inyección ("inyección en dosis única") de formoterol a la dosis de 0,05 mg/kg descrito en el ejemplo 11. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en minutos después de la inyección.

[0052] La figura 12 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de tratamientos con formoterol a diferentes dosis (0,05 mg/kg; 0,005 mg/kg; 0,0005 mg/kg) descritos en el ejemplo 11. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0053] La figura 13 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con salbutamol descrito en el ejemplo 12. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0054] La figura 14 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con salbutamol por inhalación descrito en el ejemplo 12. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g). En el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días antes de la cirugía como se expone en el ejemplo 1, antes del comienzo del tratamiento y al finalizar el tratamiento como se describe en el ejemplo 12.

[0055] La figura 15 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con salmeterol descrito en el ejemplo 13. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0056] La figura 16 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con salmeterol por inhalación descrito en el ejemplo 13. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g). En el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días antes de la cirugía como se expone en el ejemplo 1, antes del comienzo del tratamiento y al finalizar el tratamiento como se describe en el ejemplo 12.

[0057] La figura 17 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con terbutalina descrito en el ejemplo 14. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0058] La figura 18 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con terbutalina (0,5 mg/kg) o con solución salina descrito en el ejemplo 14. El gráfico de la izquierda presenta los resultados de la pata izquierda (sin cirugía). El de la derecha presenta los resultados de la pata derecha (con cirugía). En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0059] La figura 19 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de terbutalina a la dosis de 0,5 mg/kg y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 descrito en el ejemplo 14. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g).

[0060] La figura 20 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de tratamientos con terbutalina a diferentes dosis (0,25 mg/kg; 0,125 mg/kg; 0,05 mg/kg; 0 mg/kg) descritos en el ejemplo 14. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0061] La figura 21 es un gráfico que recapitula en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff") el efecto comparado de un tratamiento crónico con la solución de control (solución salina, "dosis 0"), con terbutalina a diferentes dosis y con nortriptilina descrito en el ejemplo 14. El gráfico de la parte superior presenta los resultados de la pata izquierda (sin cirugía). El de la parte inferior presenta los resultados de la pata derecha (con cirugía). En el eje de ordenadas, la recuperación de los animales se indica en porcentaje de su sensibilidad antes de la cirugía.

[0062] La figura 22 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con terbutalina (Ter) mediante gel descrito en el ejemplo 14. El gel de control no contiene terbutalina. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0063] La figura 23 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de la colocación de un implante de terbutalina (Ter) descrito en el ejemplo 14. El implante de control no contiene terbutalina. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0064] La figura 24 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de la primera inyección ("inyección en dosis única") de fenoterol, de salbutamol, de salmeterol, y de terbutalina descrito en el ejemplo 15. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en minutos después de la inyección.

[0065] La figura 25 es un gráfico que recapitula, en animales neuropáticos ("Cuff"), el efecto comparado de un tratamiento crónico con la solución de control (solución salina), con nortriptilina, con bambuterol, con clembuterol, con fenoterol, con formoterol, con salbutamol, con salmeterol, con terbutalina, con isoprenalina, con ritodrina, con metaproterenol y con procaterol descrito en el ejemplo 16. En el eje de ordenadas, la recuperación de los animales se indica en porcentaje de su sensibilidad antes de la cirugía.

[0066] La figura 26 es un gráfico que recapitula, en animales de control ("Sham"), el efecto comparado de un tratamiento crónico con la solución de control (solución salina), con nortriptilina, con bambuterol, con clembuterol, con fenoterol, con formoterol, con salbutamol, con salmeterol, con terbutalina, con isoprenalina, con ritodrina, con metaproterenol y con procaterol descrito en el ejemplo 17. En el eje de ordenadas se indica el umbral nociceptivo de los animales en porcentaje de su sensibilidad antes de la cirugía.

[0067] La figura 27 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de bambuterol, o de fenoterol, o de formoterol, o de salmeterol, y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 descrito en el ejemplo 18. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g).

[0068] La figura 28 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de salbutamol y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 inyectado por vía intraperitoneal o intratecal, descrito en el ejemplo 19. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g).

[0069] La figura 29 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con isoprenalina (o isoproterenol) descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0070] La figura 30 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de isoprenalina y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g).

[0071] La figura 31 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con ritodrina descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0072] La figura 32 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un co-tratamiento de ritodrina y del antagonista beta2-adrenérgico ICI 118.551 descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g).

[0073] La figura 33 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con metaproterenol descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0074] La figura 34 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con metaproterenol mediante gel descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

[0075] La figura 35 es un gráfico que muestra, en animales de control ("Sham") o neuropáticos ("Cuff"), el efecto de un tratamiento con procaterol descrito en el ejemplo 20. En el eje de ordenadas, la presión ejercida se expresa en

gramos (g) y en el eje de abscisas, el tiempo se expresa en días a partir de la operación quirúrgica expuesta en el ejemplo 1.

Ejemplos

[0076] En los siguientes ejemplos, los protocolos y resultados experimentales ilustran los datos científicos de los inventores que conducen a proponer a los agonistas beta adrenérgicos para tratar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática. Los inventores demuestran de forma experimental particularmente:

1. Que un bloqueo repetido de los receptores alfa2-adrenérgicos (por ejemplo mediante yohimbina) es ineficaz para bloquear el efecto analgésico de los antidepresivos: este efecto no implica por lo tanto a los alfa2 adrenorreceptores;
2. Que un bloqueo repetido de los receptores beta adrenérgicos (por ejemplo por propranolol) bloquea el efecto terapéutico de los antidepresivos: los beta-adrenorreceptores son, por lo tanto, responsables del efecto terapéutico de los antidepresivos contra el dolor neuropático, por ejemplo sobre la alodinia neuropática. Este efecto es específico, ya que el propranolol no afecta a la respuesta de los animales de control, tratados o no por ejemplo con nortriptilina.

[0077] Los inventores ensayan también moléculas específicas de los 3 subtipos de beta-adrenorreceptores: metoprolol contra los beta1; ICI 18.551 contra los beta2 y SR59230A contra los beta3, y muestran que solamente el antagonista de los beta2-adrenorreceptores bloquea el efecto de los antidepresivos. Esto demuestra que el efecto terapéutico de los antidepresivos contra el dolor neuropático, por ejemplo sobre la alodinia neuropática, necesita a los beta2-adrenorreceptores. Este efecto es específico, ya que ICI 118.551 no afecta a la respuesta de los animales de control, tratados o no con nortriptilina.

[0078] Los inventores demuestran a continuación que un tratamiento crónico con diversos agonistas específicos de los beta2-adrenorreceptores hace desaparecer totalmente el dolor neuropático, por ejemplo la alodinia neuropática y puede sustituir, por lo tanto, a la utilización de los antidepresivos. Esta demostración se ha realizado, por ejemplo, con clenbuterol, fenoterol, formoterol, salbutamol, salmeterol, terbutalina, ritodrina, metaproterenol y procaterol. La misma demostración se ha realizado, por ejemplo, con bambuterol e isoprenalina, agonistas generales beta-adrenérgicos. Los agonistas beta2-adrenérgicos y, de forma más general, los agonistas beta adrenérgicos, pueden permitir, por lo tanto, tratar los dolores neuropáticos, particularmente la alodinia neuropática.

[0079] Los inventores demuestran que este efecto de los agonistas de los beta2-adrenorreceptores sobre el dolor neuropático, por ejemplo sobre la alodinia neuropática, no se observa a corto plazo después de la primera inyección del agonista en cuestión. Esto se ha demostrado por ejemplo con clenbuterol, bambuterol, fenoterol, formoterol, salbutamol, salmeterol y terbutalina. Un tratamiento crónico es, por lo tanto, necesario.

[0080] Los inventores muestran que el tratamiento crónico con diversos agonistas específicos de los beta2-adrenorreceptores no afecta de forma específica a la sensibilidad de los animales de control. Esta demostración se ha realizado, por ejemplo, con clenbuterol, fenoterol, formoterol, salbutamol, salmeterol, terbutalina, ritodrina, metaproterenol y procaterol. La misma demostración se ha realizado, por ejemplo, con bambuterol e isoprenalina, agonistas generales beta adrenérgicos. A las dosis terapéuticas, los agonistas beta2-adrenérgicos y, de forma más general, los agonistas beta adrenérgicos, no tienen por lo tanto a largo plazo ningún efecto inespecífico sobre la sensibilidad nociceptiva.

[0081] Los inventores demuestran que el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 bloquea el efecto terapéutico de un tratamiento crónico mediante los agonistas de los receptores beta adrenérgicos sobre el dolor neuropático, por ejemplo sobre la alodinia neuropática. Esta demostración se ha realizado, por ejemplo, con bambuterol, isoprenalina, clenbuterol, fenoterol, formoterol, salbutamol, salmeterol, terbutalina, ritodrina y procaterol. El efecto del tratamiento con estos agonistas sobre el dolor neuropático, por ejemplo, sobre la alodinia neuropática, implica, por lo tanto, claramente su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

[0082] Los inventores demuestran que el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 suministrado por vía intratecal bloquea el efecto terapéutico de un tratamiento crónico mediante un agonista de los receptores beta adrenérgicos. Esta demostración se ha realizado, por ejemplo, con salbutamol. Estos resultados muestran que la médula espinal y/o los ganglios raquídeos están implicados en el efecto terapéutico de los agonistas beta2-adrenérgicos.

[0083] Los inventores demuestran que la administración por inhalación de agonistas de los beta2-adrenorreceptores, como por ejemplo salbutamol o salmeterol, alivia la alodinia neuropática.

[0084] Los inventores demuestran que la administración transcutánea en forma de gel de agonistas de los beta2-adrenorreceptores, como por ejemplo terbutalina o metaproterenol, alivia la alodinia neuropática.

[0085] Los inventores demuestran que la administración continua de agonistas de los beta2-adrenorreceptores, como por ejemplo con implantes de terbutalina, alivia la alodinia neuropática.

[0086] El detalle de los protocolos operatorios y resultados obtenidos se presenta en los ejemplos a continuación.

Ejemplo 1: modelo murino de dolor neuropático.

[0087] Los experimentos se realizaron en ratones macho adultos. Los experimentos farmacológicos se realizaron utilizando ratones C57BL/6J (de 3 a 6 semanas de edad en el momento de su llegada, Charles River, L'Arbresle, Francia).

[0088] Todos los experimentos comenzaron con ratones de 6 a 9 semanas de edad. Para los experimentos de aplicación de gel, los ratones se estabularon individualmente. Para todos los demás experimentos, los ratones se reunieron de cuatro a cinco por jaula y se mantuvieron en una alternancia día/noche de 12 horas (luz a 6:00 h de la mañana) con alimento y agua *ad libitum*. Los procedimientos se realizaron siguiendo la Directiva 86/609/CEE.

[0089] El modelo se obtiene mediante colocación de un manguito de polietileno alrededor de la rama principal del nervio ciático derecho de cada ratón. Antes de cualquier intervención quirúrgica, los ratones fueron asignados a los diferentes grupos experimentales de forma que el umbral de la nocicepción mecánica de base y el peso sean equivalentes entre los diferentes grupos. La intervención quirúrgica se realizó bajo anestesia con ketamina-xilazina (ketamina: 17 mg/ml, xilazina 2,5 mg/ml, inyección intraperitoneal a razón de 4 ml/kg) (Centravet Sociedad Anónima, Taden, Francia). La rama común del nervio ciático quedó expuesta y una sección de 2 mm de largo de un tubo hueco de polietileno PE-20 ("Harvard Apparatus", Les Ulis, Francia) se colocó alrededor de ésta (grupo "Cuff"). Este protocolo se publicó previamente (Benbouzid, M. et al. Biological Psychiatry 63: 633-636 (2008) (10) y Benbouzid, M. et al. European Journal of Pain 12: 591-599 (2008) (11)). Los ratones de control fueron operados siguiendo el mismo procedimiento, pero sin colocar el manguito (grupo "Sham"). Los grupos experimentales están constituidos por al menos 4 ratones para cada grupo de control ("Sham") y por al menos 5 ratones para cada grupo neuropático ("Cuff").

[0090] La colocación del manguito de polietileno (grupo "Manguito" o "cuff") alrededor de la rama principal del nervio ciático conlleva una alodinia mecánica, es decir una respuesta a una estimulación normalmente no dolorosa, con respecto a los animales de control (grupo "de control" o "sham"). Esto significa que el umbral de presión que conlleva una respuesta de retirada de la pata del ratón disminuye fuertemente, como indica el gráfico de la figura 1.

[0091] Para los ensayos, en los siguientes ejemplos, la presión es ejercida sobre la pata de los ratones por medio de filamentos de von Frey (Biobase, Chaville, Francia) (Benbouzid, M. et al. Biological Psychiatry 63: 633-636 (2008) (10) y Benbouzid, M. et al. European Journal of Pain 12: 591-599 (2008) (11)). Los ratones se colocan en cajas de Plexiglás (marca registrada) transparente (7 cm x 9 cm x 7 cm) colocadas sobre una rejilla elevada. Antes del ensayo, los ratones se habitúan durante 15 minutos a este dispositivo. Durante el ensayo, los filamentos de von Frey se aplican sobre la superficie plantar de cada pata trasera según fuerzas ascendentes (de 0,16 g hasta una respuesta de retirada de la pata, o hasta 10 g como máximo). Cada filamento se ensaya 5 veces por pata y el umbral se define mediante la presencia de 3 o más retiradas observadas en los 5 ensayos. Antes de la cirugía tal como se ha descrito anteriormente, los animales fueron pre-ensayados para establecer su respuesta nociceptiva de base. Durante experimentos de tratamiento crónico y de inyección repetidas de antagonistas, los ensayos se realizan por las mañanas antes de la primera inyección del día. Durante experimentos de inyección en dosis única de agonista, los ensayos se realizan después de la primera inyección siguiendo la evolución temporal tal como se presenta en los gráficos.

[0092] La cirugía para la colocación del manguito corresponde al día 0. La alodinia mecánica obtenida en estos ratones dura más de 2 meses, como se ha publicado anteriormente (Benbouzid, M. et al. Biological Psychiatry 63: 633-636 (2008) (10) y Benbouzid, M. et al. European Journal of Pain 12: 591-599 (2008) (11)).

[0093] Este modelo de ratón neuropático es sensible al tratamiento crónico con un antidepresivo tricíclico (nortriptilina o amitriptilina) tal como se ha publicado anteriormente (Benbouzid, M. et al. Biological Psychiatry 63: 633-636 (2008) (10)).

[0094] Para todos los tratamientos realizados por inyección, éstas se realizaron por vía intraperitoneal en un volumen de 50 µl por 10 mg de peso corporal.

Ejemplo 2: Efecto terapéutico de un antidepresivo tricíclico.

[0095] En modelos de ratón obtenidos de la manera descrita en el ejemplo 1, cuando la alodinia estaba bien establecida, el día 15 después de la operación de colocación del manguito, comenzó un tratamiento terapéutico con el antidepresivo nortriptilina o "Nor", a razón de 5 mg/kg (Clorhidrato de nortriptilina; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo N7261; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl), inyección 2 veces al día (mañana y tarde). Este tratamiento reproduce lo que se observa en clínica: el tratamiento es ineficaz los

primeros días pero a continuación hace desaparecer totalmente la alodinia.

[0096] Un grupo “placebo” de ratones se sometió a una inyección de solución salina únicamente (solución al 0,9% de NaCl), sin antidepressivo, (en el gráfico “Sal” para inyección de solución salina al 0,9%). Este grupo “Sal” permanece alodínico durante todo el experimento.

[0097] Los resultados de este ejemplo se muestran en la figura 1 adjunta.

[0098] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o “sham”) no resulta afectada por el tratamiento con nortriptilina: su umbral nociceptivo permanece estable a lo largo del experimento.

Ejemplo 3: Ausencia de efecto de un bloqueo de los alfa2-adrenorreceptores sobre la acción del antidepressivo y presencia de efecto de un bloqueo de los beta-adrenorreceptores sobre la acción del antidepressivo.

[0099] El gráfico de la izquierda de la figura 2 muestra que en animales neuropáticos (“Manguito”) que fueron tratados durante 3 semanas con nortriptilina (5 mg/kg, 2 veces al día) tal como se ha descrito en el ejemplo 2 (y, por lo tanto, aliviados de su alodinia), un co-tratamiento con nortriptilina y el antagonista (bloqueador) de los alfa2-adrenorreceptores (yohimbina, 2 mg/kg, intraperitoneal) (clorhidrato de yohimbina; disponible de proveedores como, por ejemplo, Sigma-Aldrich número de catálogo Y3125; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) no tiene ninguna influencia sobre el beneficio terapéutico. El efecto terapéutico de la nortriptilina no implica, por lo tanto, un reclutamiento de los alfa2-adrenorreceptores.

[0100] Un bloqueo de los beta-adrenorreceptores suprime el efecto terapéutico del antidepressivo.

[0101] El gráfico de la derecha de la figura 2 muestra que en animales neuropáticos tratados durante 3 semanas con nortriptilina (5 mg/kg, 2 veces al día), un co-tratamiento con nortriptilina tal como se ha descrito en el ejemplo 2 y el antagonista de los beta-adrenorreceptores (propranolol, 5 mg/kg intraperitoneal) (clorhidrato de (+/-)-propranolol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo P0884; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) hace reaparecer la alodinia en varios días. El efecto terapéutico del antidepressivo implica, por lo tanto, a los beta-adrenorreceptores.

[0102] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o “sham”) no resulta afectada por las inyecciones de yohimbina o de propranolol: su umbral nociceptivo permanece estable a lo largo del experimento.

[0103] Los mismos resultados se obtienen utilizando sotatol, 2 mg/kg, (clorhidrato de (+/-) sotatol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo S0278; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) en lugar del propranolol, 5 mg/kg.

Ejemplo 4: Ausencia de efecto de un bloqueo de los beta1-adrenorreceptores sobre la acción del antidepressivo.

[0104] El gráfico de la izquierda de la figura 3 muestra que en animales neuropáticos tratados durante 3 semanas con nortriptilina tal como se ha descrito en el ejemplo 2, un co-tratamiento de 6 días con nortriptilina y el antagonista de los beta1-adrenorreceptores (metoprolol, 2 mg/kg, intraperitoneal) ((+)-tartrato de (+/-)-metoprolol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo M5391; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) no tiene ninguna influencia sobre el beneficio terapéutico.

[0105] Los mismos resultados se obtienen utilizando atenolol, 5 mg/kg, (atenolol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo A7655; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) en lugar de metoprolol 2 mg/kg.

Ejemplo 5: Presencia de efecto de un bloqueo de los beta2-adrenorreceptores sobre la acción del antidepressivo.

[0106] El gráfico de la izquierda de la figura 3 muestra que en animales neuropáticos tratados durante 3 semanas con nortriptilina tal como se ha descrito en el ejemplo 2, un co-tratamiento de 6 días con nortriptilina y el antagonista de los beta2-adrenorreceptores (ICI 118.551, 2 mg/kg, intraperitoneal) (clorhidrato de ICI 118.551; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo 1127; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) conlleva una reaparición de la alodinia neuropática.

[0107] Un bloqueo de los beta2-adrenorreceptores suprime el efecto terapéutico del antidepressivo.

[0108] El gráfico de la derecha de la figura 3 detalla la evolución temporal de la reaparición del dolor neuropático en los ratones que portan el manguito (“Cuff”) cuando ICI 118.551 se co-administra con nortriptilina (“Nor”), tal como se ha descrito anteriormente. El gráfico muestra que la alodinia reaparecía en las 48 horas siguientes al comienzo del

co-tratamiento.

[0109] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551.

Ejemplo 6: Ausencia de efecto de un bloqueo de los beta3-adrenorreceptores sobre la acción del antidepresivo.

[0110] El gráfico de la izquierda la figura 3 muestra que en animales neuropáticos tratados durante 3 semanas con nortriptilina, un co-tratamiento: de 6 días con nortriptilina y el antagonista de los beta3-adrenorreceptores (SR59230A, 2,5 mg/kg, intraperitoneal) (SR 59230A; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo S8688; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) no tiene ninguna influencia sobre el beneficio terapéutico.

Ejemplo 7: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores clenbuterol alivia la alodinia neuropática.

[0111] El gráfico de la figura 4 muestra que la primera inyección del agonista beta2 adrenérgico clenbuterol (0,3 mg/kg, intraperitoneal) (clorhidrato de clenbuterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo C5423; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) no tiene ningún efecto sobre la alodinia mecánica de los ratones neuropáticos ("Cuff") durante 2 semanas.

[0112] Los ratones del grupo de control (o "sham") no resultan afectados por la primera administración de este agonista.

[0113] El gráfico de la figura 5 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico clenbuterol ("Clem", 0,3 mg/kg, intraperitoneal, 2 veces al día (mañana y noche)) (clorhidrato de clenbuterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo C5423; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0114] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de clenbuterol.

[0115] Estos datos muestran por primera vez que la administración de clenbuterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 8: Efecto de un bloqueo de los beta2-adrenorreceptores sobre la acción de clenbuterol.

[0116] El gráfico de la figura 6 muestra que, después de 3 semanas de tratamiento con clenbuterol tal como se ha descrito en el ejemplo 7, si se co-administra el clenbuterol y el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 ("ICI", 2 mg/kg, intraperitoneal, tal como se ha descrito en el ejemplo 5), esto hace reaparecer la alodinia en los animales neuropáticos ("Cuff") en varios días. El efecto terapéutico del clenbuterol implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

[0117] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551.

Ejemplo 9: TERAPIA: El agonista de los beta-adrenorreceptores bambuterol alivia la alodinia neuropática.

[0118] El gráfico de la figura 7 muestra que la primera inyección del agonista beta2 adrenérgico bambuterol (0,5 mg/kg; intraperitoneal) (clorhidrato de bambuterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo B8684; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) no tiene ningún efecto antialodínico en ratones neuropáticos ("Cuff") durante 2 semanas.

[0119] Los ratones del grupo de control (o "sham") ya no resultan afectados por la primera administración de este agonista.

[0120] El gráfico de la figura 8 muestra que un tratamiento con el agonista beta adrenérgico bambuterol (0,5 mg/kg, 2 veces al día (mañana y noche)) (clorhidrato de bambuterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo B8684; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0121] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de bambuterol.

[0122] Estos datos muestran por primera vez que la administración de bambuterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 10: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores fenoterol alivia la alodinia neuropática.

[0123] El gráfico de la figura 9 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico fenoterol (0,7 mg/kg, 2 veces al día (mañana y noche)) (bromhidrato de fenoterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo F1016; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0124] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de fenoterol.

[0125] Estos datos muestran por primera vez que la administración de fenoterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 11: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores formoterol alivia la alodinia neuropática.

[0126] El gráfico de la figura 10 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico formoterol (0,5 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (fumarato de formoterol dihidrato; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo F9552; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0127] El gráfico de la figura 11 muestra que una inyección en dosis única del agonista beta2 adrenérgico formoterol (0,05 mg/kg, intraperitoneal) no tiene ningún efecto antialodínico en ratones neuropáticos ("Cuff") durante 2 semanas.

[0128] Los ratones del grupo de control (o "sham") ya no resultan afectados por la primera administración de este agonista a esta dosis.

[0129] Los gráficos de la figura 12 muestran que tratamientos con el agonista beta2 adrenérgico formoterol a las dosis de 0,05 mg/kg o 0,005 mg/kg (inyección 2 veces al día (mañana y noche)) suprimen totalmente la alodinia mecánica de la pata derecha (pata neuropática) después del tratamiento crónico. Los grupos experimentales están constituidos por 4 ratones para todos los grupos de control ("Sham"), de 5 ratones para los grupos neuropáticos ("Cuff") que reciben las dosis de 0,05 mg/kg o 0,005 mg/kg y de 4 ratones para el grupo neuropático ("Cuff") que recibe la dosis de 0,0005 mg/kg.

[0130] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de formoterol.

[0131] Estos datos muestran por primera vez que la administración de formoterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 12: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores salbutamol alivia la alodinia neuropática.

[0132] El gráfico de la figura 13 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico salbutamol (2 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (hemisulfato de salbutamol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo S5013; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0133] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de salbutamol.

[0134] Estos datos muestran por primera vez que la administración de salbutamol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0135] Los gráficos de la figura 14 muestran que un tratamiento con agonista beta2 adrenérgico salbutamol por inhalación (2 veces al día (mañana y noche)) (sulfato de salbutamol en inhalador; disponible de proveedores como por ejemplo GlaxoSmithKline con el nombre de Ventoline®) alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico. Para realizar este tratamiento, los animales se colocaron de forma individual en el interior de cámaras de inhalación (disponible de proveedores como por ejemplo GlaxoSmithKline, cámara de inhalación Babyhaler® referencia 7072184) cuyas salidas de aire principales se obturaron. El frasco presurizado de Ventoline® se conecta a la cámara y una presión permite suministrar 100 µg de salbutamol por sesión de administración (es decir 200 µg al día) en el interior de la cámara de inhalación cuando el hocico del ratón está próximo al inhalador. El animal se deja a continuación 5 minutos en la cámara antes de retirarlo y devolverlo a su jaula. El tratamiento comenzó 2 semanas después de la cirugía de colocación de los manguitos alrededor del nervio ciático. Después de 2 semanas de tratamiento con una presión de inhalador por sesión de administración, el tratamiento pasó, durante 9 días, a 3 presiones de inhalador por sesión de administración. El gráfico de la figura 14

corresponde a los resultados antes de la cirugía, antes del comienzo del tratamiento y el último día de tratamiento. Los animales de control para el tratamiento (animales no tratados) siguen el mismo procedimiento pero sin suministro de salbutamol.

- 5 **[0136]** Estos datos muestran por primera vez que una administración de salbutamol por inhalación puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 13: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores salmeterol alivia la alodinia neuropática.

- 10 **[0137]** El gráfico de la figura 15 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico salmeterol (1 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (xinafoato de salmeterol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo S5068; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica después del tratamiento crónico.

- 15 **[0138]** La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de salmeterol.

[0139] Estos datos muestran por primera vez que la administración de salmeterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

- 20 **[0140]** Los gráficos de la figura 16 muestran que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico salmeterol por inhalación (2 veces al día (mañana y noche)) (xinafoato de salmeterol en inhalador; disponible de proveedores como por ejemplo GlaxoSmithKline con el nombre de Serevent®) alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico. Para realizar este tratamiento, los animales se colocaron de forma individual en el interior de cámaras de inhalación (disponible de proveedores como por ejemplo GlaxoSmithKline, cámara de inhalación Babyhaler® referencia 7072184) cuyas salidas de aire principales se obturaron. El frasco presurizado de Serevent® se conecta a la cámara y dos presiones permiten suministrar 50 µg de salmeterol por sesión de administración (es decir 100 µg al día) en el interior de la cámara de inhalación cuando el hocico del ratón está próximo al inhalador. El animal se deja a continuación 5 minutos en la cámara antes de retirarlo y devolverlo a su jaula. El tratamiento comenzó 2 semanas después de la cirugía de colocación de los manguitos alrededor del nervio ciático. Después de 2 semanas de tratamiento con dos presiones de inhalador por sesión de administración, el tratamiento pasó, durante nueve días, a cuatro presiones de inhalador por sesión de administración. El gráfico de la figura 16 corresponde a los resultados antes de la cirugía, antes del comienzo del tratamiento y en el último día de tratamiento. Los animales de control para el tratamiento (animales no tratados) siguen el mismo procedimiento, pero sin suministro de salmeterol.

[0141] Estos datos muestran por primera vez que una administración de salmeterol por inhalación puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

- 40 **Ejemplo 14: TERAPIA: El agonista de los beta2-adrenorreceptores terbutalina alivia la alodinia neuropática.**

- [0142]** El gráfico de la figura 17 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina (5 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (hemisulfato de terbutalina; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo T2528; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica después del tratamiento crónico.

- [0143]** Los gráficos de la figura 18 muestran que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina (0,5 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) suprime totalmente la alodinia mecánica de la pata derecha (pata con cirugía que lleva el "manguito" o "cuff") después del tratamiento crónico sin afectar de forma específica a la respuesta de la pata izquierda no neuropática (pata sin cirugía).

- [0144]** El gráfico de la figura 19 muestra que, después de 3 semanas de tratamiento con terbutalina a la dosis de 0,5 mg/kg (inyección 2 veces al día (mañana y noche)), si se co-administra terbutalina y el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 ("ICI", 2 mg/kg, intraperitoneal, tal como se ha descrito en el ejemplo 5), esto hace reaparecer la alodinia en los animales neuropáticos ("Cuff") en varios días. El gráfico muestra el umbral nociceptivo de los animales después de 3 semanas de tratamiento con terbutalina y después de 4 días de co-tratamiento con ICI 118.551. El efecto terapéutico de la terbutalina implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

- 60 **[0145]** La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551.

- [0146]** Los gráficos de la figura 20 muestran que tratamientos con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina a las dosis de 0,25 mg/kg o 0,125 mg/kg (inyección 2 veces al día (mañana y noche)) suprimen totalmente la alodinia mecánica de la pata derecha (pata neuropática) después del tratamiento crónico.

[0147] Los gráficos de la figura 21 recapitulan los datos sobre el estudio de respuesta a la dosis de la acción antialodínica de terbutalina. Estos presentan la variación de umbral nociceptivo en % de la sensibilidad al comienzo del experimento. Los datos son promediados sobre mediciones realizadas durante la tercera semana de tratamiento de los animales. La sensibilidad mecánica de los animales tratados con un placebo (solución salina, indicada como dosis 0) permanece estable durante el experimento. Los animales neuropáticos ("Cuff") tienen una alodinia mecánica de la pata derecha que lleva el manguito. El tratamiento crónico (3 semanas) de los animales neuropáticos con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina a las dosis de 0,125 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg o 5 mg/kg suprime la alodinia de la pata derecha neuropática sin afectar a la sensibilidad mecánica de la pata izquierda no neuropática. Estos mismos tratamientos no afectan a los animales de control ("Sham"). Para comparar, el efecto del antidepressivo nortriptilina ("Nor", 5 mg/kg, 2 veces al día (mañana y noche)) también se presenta. El antidepressivo ya no altera la sensibilidad de animales de control. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

[0148] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de terbutalina.

[0149] Estos datos muestran por primera vez que la administración de terbutalina puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0150] El gráfico de la figura 22 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina administrado mediante aplicación cutánea (0,1 ml de gel aplicado 2 veces al día (mañana y noche)) (2,5 mg/ml de hemisulfato de terbutalina en un gel que contiene el 5% de hidroxietilcelulosa diluido en el 5% de etanol y el 95% de agua. Hidroxietilcelulosa disponible de proveedores como por ejemplo Fluka número de catálogo 54290) alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico. El lomo de los animales se rasuró para que el pelo no se opusiera a la penetración del gel. El gel se coloca sobre el lomo a nivel lumbar en el animal despierto y el depósito se masajea suavemente hasta la penetración del producto. Los animales de control para el tratamiento siguen el mismo procedimiento, pero no se introdujo ningún agonista beta2 adrenérgico en el gel. El tratamiento con terbutalina comenzó 8 días después de la cirugía de colocación de los manguitos alrededor del nervio ciático, los demás parámetros experimentales son semejantes a los expuestos en el ejemplo 1.

[0151] Estos datos muestran por primera vez que una administración de terbutalina mediante aplicación cutánea puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0152] El gráfico de la figura 23 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico terbutalina administrado mediante colocación de un implante subcutáneo (implante de túbulos de silicona, disponible de proveedores como por ejemplo Sedat número de catálogo 602 235) que contiene 10 mg de hemisulfato de terbutalina alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff"). El implante permite modelizar la administración continua de modos de administración como por ejemplo los dispositivos transdérmicos. El tubo de silicona de diámetro interno 1,4732 mm y de diámetro externo 1,9558 mm se corta en tramos de 1,5 cm de largo. Uno de los extremos se obtura con cola de silicona (Silastic® Medical Adhesive Silicone Type A; disponible de proveedores como por ejemplo Dow Corning número de catálogo 891). Después del secado, los tramos se llenan con 10 mg de hemisulfato de terbutalina cada uno, el polvo se aplasta, el tramo se recubre con aproximadamente 1 cm de longitud final y se obtura con la cola de silicona. El implante se implanta en el ratón bajo anestesia gaseosa con halotano. Bajo anestesia, la nuca y la parte superior del lomo del animal se rasuran, se realiza una incisión en la parte superior de la nuca y el implante se desliza de forma sub-cutánea utilizando una cánula guía. Los animales de control para el tratamiento se someten al mismo procedimiento con la colocación de un implante vacío. Los implantes se colocaron 14 días después de la cirugía de colocación de los manguitos alrededor del nervio ciático como se ha expuesto en el ejemplo 1.

[0153] Estos datos muestran por primera vez que una administración continua de terbutalina puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Ejemplo 15: Ausencia de efecto de la inyección en dosis única (primera inyección) de agonistas de los beta2-adrenorreceptores fenoterol, salbutamol, salmeterol y terbutalina.

[0154] El gráfico de la figura 24 muestra que la primera inyección de los agonistas beta2 adrenérgicos fenoterol (0,7 mg/kg, intraperitoneal), salbutamol (2 mg/kg, intraperitoneal), salmeterol (1 mg/kg, intraperitoneal), o terbutalina (5 mg/kg, intraperitoneal) tal como se han descrito en los ejemplos anteriores no tiene ningún efecto sobre la alodinia mecánica de los ratones neuropáticos ("Cuff") durante 2 semanas.

[0155] Los ratones del grupo de control (o "sham") ya no resultan afectados por la primera administración de estos agonistas.

Ejemplo 16: TERAPIA: Recapitulativo, efecto de los agonistas beta-adrenérgicos en los animales neuropáticos.

5 [0156] El gráfico de la figura 25 presenta la variación de umbral nociceptivo en % de la sensibilidad al comienzo del experimento. Los datos son promediados sobre mediciones realizadas durante la tercera semana de tratamiento de los animales.

10 [0157] Los animales neuropáticos ("Manguito" o "cuff") tratados con un placebo (solución salina) conservan la fuerte bajada de su umbral nociceptivo, lo que ilustra la presencia de una alodinia (dolor).

15 [0158] El tratamiento crónico (14-21 días) de los animales neuropáticos con los agonistas beta adrenérgicos bambuterol, clembuterol, fenoterol, formoterol (0,5 mg/kg), salbutamol, salmeterol, terbutalina (5 mg/kg), isoprenalina, ritodrina, metaproterenol o procaterol, tal como se han descrito en los ejemplos anteriores, alivian todos esta alodinia.

20 [0159] Para comparar, el efecto del antidepresivo nortriptilina también se presenta. Las dosis y modalidades de tratamiento son las descritas anteriormente en los ejemplos 2, 7, 9 a 14 y 20. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

[0160] Los datos presentados en este caso demuestran por primera vez que un tratamiento crónico con agonistas beta o beta2 adrenérgicos administrados en solitario permite aliviar la alodinia neuropática.

Ejemplo 17: Recapitulativo, efecto de los agonistas beta adrenérgicos en animales de control.

25 [0161] El gráfico de la figura 26 presenta la variación de umbral nociceptivo en % de la sensibilidad al comienzo del experimento. Los datos son promediados sobre mediciones realizadas durante la tercera semana de tratamiento de los animales.

30 [0162] Los animales de control ("Manguito" o "cuff") son tratados con un placebo (solución salina). Su sensibilidad mecánica permanece estable durante el experimento.

35 [0163] El tratamiento crónico (14-21 días) de los animales neuropáticos con los agonistas beta adrenérgicos bambuterol, clembuterol, fenoterol, formoterol (0,5 mg/kg), salbutamol, salmeterol, terbutalina (5 mg/kg), isoprenalina, ritodrina, metaproterenol o procaterol, no afecta a los animales de control. Para comparar; el efecto del antidepresivo nortriptilina también se presenta. El antidepresivo ya no altera la sensibilidad de animales de control. Las dosis y modalidades de tratamiento son las descritas anteriormente en los ejemplos 2, 7, 9 a 14 y 20. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

40 [0164] Estos datos muestran que un tratamiento crónico con agonistas beta o beta2 adrenérgicos administrados en solitario no afecta a la sensibilidad de animales de control.

Ejemplo 18: Efecto de un bloqueo de los beta2-adrenorreceptores sobre la acción de bambuterol, de fenoterol, de formoterol y de salmeterol

45 [0165] Los gráficos de la figura 27 muestran que, después de 3 semanas de tratamiento con los agonistas beta adrenérgicos bambuterol, fenoterol, formoterol o salmeterol, si se co-administran estos agonistas y el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 ("ICI", 2 mg/kg, intraperitoneal), esto hace reaparecer la alodinia en los ratones neuropáticos ("Cuff") en varios días. Los gráficos muestran el umbral nociceptivo de los animales después de 3 semanas de tratamiento con los agonistas y después de 3 a 6 días de co-tratamiento con ICI 118.551. Las dosis y modalidades de tratamiento son las descritas anteriormente en los ejemplos 5, 9 a 11 y 13. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

50 [0166] El efecto terapéutico de estos agonistas implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

55 [0167] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551.

Ejemplo 19: Efecto de un bloqueo de los beta2-adrenorreceptores sobre la acción del salbutamol.

60 [0168] Los gráficos de la figura 28 muestran que, después de 3 semanas de tratamiento con el agonista beta2-adrenérgico salbutamol, si se co-administran este agonista y el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551, esto hace reaparecer la alodinia en los ratones neuropáticos ("Cuff") en varios días. El gráfico de la izquierda muestra el umbral nociceptivo de los animales después de 3 semanas de tratamiento con salbutamol y después de 3 días de co-tratamiento con ICI 118.551 co-inyectado por vía intraperitoneal (2 mg/kg). El gráfico de la

derecha muestra el umbral nociceptivo de los animales después de al menos 3 semanas de tratamiento con salbutamol y después de 2 inyecciones de co-tratamiento con ICI 118.551 administrado por vía intratecal antes de cada inyección de salbutamol (2 mg/kg, intraperitoneal). Las dosis y modalidades de tratamiento son las descritas anteriormente en los ejemplos 5 y 12 para las inyecciones intraperitoneales y a continuación para la descripción del procedimiento de inyección intratecal. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1. El efecto terapéutico de salbutamol implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

[0169] Los resultados de la inyección intratecal muestran que los beta2-adrenorreceptores espinales y/o los de los ganglios raquídeos son importantes para el efecto terapéutico de salbutamol.

[0170] El procedimiento de inyección intratecal (i.t.) del antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 (3 µg en 10 µl) se realiza bajo anestesia gaseosa con halotano de acuerdo con el protocolo descrito por Inoue y col. (Nature Medicine 2004, 10: 712-718 **(12)**). Estas inyecciones i.t. se realizan justo antes de la inyección intraperitoneal de salbutamol (2 mg/kg, i.p.). Una aguja de inyección de calibre 27 conectada a una jeringa Hamilton de 50 µl se inserta entre las vértebras L₅ y L₆ en el espacio subaracnoideo. La correcta colocación de la aguja se verifica por la presencia de un movimiento reflejo de la cola del ratón. Los ratones se ensayan previamente antes de este procedimiento de co-tratamiento, y a continuación son co-tratados dos veces (una por la mañana y por la noche correspondiente) antes de volver a someterlos a ensayo a la mañana siguiente para su sensibilidad nociceptiva mecánica.

[0171] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551, ya sean éstas intraperitoneales o intratecales.

Ejemplo 20: Efecto de una estimulación de los beta o beta2-adrenorreceptores: otros ensayos.

[0172] En las condiciones descritas en los ejemplos anteriores, se ensayan las siguientes moléculas:

- bitolterol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- isoprenalina o isoproterenol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- levalbuterol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- metaproterenol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- pirbuterol (por ejemplo entre 0,25 y 50 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- procaterol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- reproterol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- ritodrina (por ejemplo entre 0,25 y 50 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal);
- tulobuterol (por ejemplo entre 0,05 y 5 mg/kg, 2 veces al día, intraperitoneal).

[0173] El gráfico de la figura 29 muestra que un tratamiento con el agonista beta adrenérgico isoprenalina (0,5 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (cloruro de DL-isoproterenol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo I5627; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0174] Estos datos muestran por primera vez que la administración de isoprenalina puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0175] El gráfico de la figura 30 muestra que, después de 3 semanas de tratamiento con el agonista beta adrenérgico isoprenalina, si se co-administra el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 ("ICI", 2 mg/kg, intraperitoneal), esto hace reaparecer la alodinia en los ratones neuropáticos ("Cuff") en varios días. El gráfico muestra el umbral nociceptivo de los animales después de 3 semanas de tratamiento con isoprenalina y después de 4 días de co-tratamiento con ICI 118.551. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

[0176] El efecto terapéutico de este agonista implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

[0177] La sensibilidad nociceptiva de los ratones del grupo de control (o "sham") no resulta afectada por las inyecciones de ICI 118.551.

[0178] El gráfico de la figura 31 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico ritodrina (10 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (clorhidrato de ritodrina; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo R0758; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl que contiene el 0,3% de antioxidante ácido ascórbico) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0179] Estos datos muestran por primera vez que la administración de ritodrina puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0180] El gráfico de la figura 32 muestra que, después de 3 semanas de tratamiento con el agonista beta adrenérgico ritodrina, si se co-administra el antagonista de los beta2-adrenorreceptores ICI 118.551 ("ICI", 2 mg/kg, intraperitoneal), esto hace reaparecer la alodinia en los ratones neuropáticos ("Cuff") en varios días. El gráfico muestra el umbral nociceptivo de los animales después de 3 semanas de tratamiento con ritodrina y después de 4 días de co-tratamiento con ICI 118.551. El modelo y los ensayos utilizados son los descritos en el ejemplo 1.

[0181] El efecto terapéutico de este agonista implica claramente, por lo tanto, su acción sobre los beta2-adrenorreceptores.

[0182] El gráfico de la figura 33 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico metaproterenol (1 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (hemisulfato de metaproterenol; disponible de proveedores como por ejemplo Sigma-Aldrich número de catálogo M2398; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0183] Estos datos muestran por primera vez que la administración de metaproterenol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

[0184] El gráfico de la figura 34 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico metaproterenol administrado mediante aplicación cutánea (0,1 ml de gel aplicado 2 veces al día (mañana y noche)) (1 mg/ml de metaproterenol hemisulfato en un gel que contiene el 5% de hidroxietilcelulosa diluido en el 5% de etanol y el 95% de agua. Hidroxietilcelulosa disponible de proveedores como por ejemplo Fluka número de catálogo 54290) alivia la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico. El lomo de los animales se rasuró para que el pelo no se opusiera a la penetración del gel. El gel se coloca sobre el lomo a nivel lumbar en el animal despierto y el depósito se masajea suavemente hasta la penetración del producto. Los animales de control para el tratamiento siguen el mismo procedimiento, pero no se introdujo ningún agonista beta2 adrenérgico en el gel. El tratamiento con metaproterenol comenzó 8 días después de la cirugía de colocación de los manguitos alrededor del nervio ciático, los demás parámetros experimentales son semejantes a los expuestos en el ejemplo 1.

[0185] Estos datos muestran por primera vez que una administración de metaproterenol mediante aplicación cutánea puede aliviar la alodinia neuropática.

[0186] El gráfico de la figura 35 muestra que un tratamiento con el agonista beta2 adrenérgico procaterol (0,8 mg/kg, inyección 2 veces al día (mañana y noche)) (clorhidrato de procaterol; disponible de proveedores como por ejemplo Biotrend AG número de catálogo BN0432; diluido en una solución salina al 0,9% de NaCl) suprime totalmente la alodinia mecánica en los ratones neuropáticos ("Cuff") después del tratamiento crónico.

[0187] Estos datos muestran por primera vez que la administración de procaterol puede aliviar el dolor neuropático, particularmente la alodinia neuropática.

Lista de referencias

[0188]

(1) Bouhassira D, Lantéri-Minet M, Attal N, Laurent B, Touboul C. Prevalence of chronic pain with neuropathic characteristics in the general population. *Pain* 2008, 136: 380-387.

(2) Merksey H, Bogduk N, editores. *Classification of Chronic Pain*. IASP Press, Seattle 1994.

(3) McQuay HJ, Tramer M, Nye BA, Carroll D, Wiffen PJ, Moore RA. A systemic review of antidepressants in neuropathic pain. *Pain* 1996, 68: 217-227.

(4) Hempenstall K, Nurmikko TJ, Johnson RW, A'Hern RP, Rice ASC. Analgesic therapy in postherpetic neuralgia: a quantitative systematic review. *PLoS Medicine* 2:e164.

(5) Gilron I, Watson CP, Cahill CM, Moulin DE. Neuropathic pain: a practical guide for the clinician. *CMAJ* 2006, 175: 265-275.

(6) Attal N, Cruccu G, Haanpaa M, Hansson P, Jensen TS, Nurmikko T, Sampaio C, Wiffen P, EFNS Task Force. *European Journal of Neurology* 2006, 13: 1153-1169.

(7) Moulin DE, Clark AJ, Gilron I, Ware MA, Watson CP, Sessle BJ, Coderre T, Morley-Foster PK, Stinson J, Boulanger A, Peng P, Finley GA, Taenzer P, Squire P, Dion D, Chokkan A, Gilani A, Gordon A, Henry J, Jovey R, Lynch M, Mailis-Gagnon A, Panju A, Rollman GB, Velly A, Canadian Pain Society. Pharmacological management of chronic neuropathic pain - consensus and guidelines from the Canadian pain Society. *Pain Research Management* 2007, 12: 13-21.

(8) Dworkin RH, O'Connor AB, Backonja M, Farrar JT, Finerup NB, Jensen TS, Kalso EA, Loeser JD, Miaskowski C, Nurmikko TJ, Portenoy RK, Rice ASC, Stacey BR, Treede RD, Turk DC, Wallace MS. Pharmacological management of neuropathic pain: evidence-based recommendation. *Pain* 2007, 132: 237-251.

(9) Crassous PA, Denis C, Paris H, Sénard JM. Interest of alpha2-adrenergic agonists and antagonists in clinical

practice: background, facts and perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2007, 7: 187-194.

(10) Benbouzid M, Gavériaux-Ruff C, Yalcin I, Waltisperger E, Tessier LH, Muller A, Kieffer BL, Freund-Mercier MJ, Barrot M. Delta-opioid receptors are critical for tricyclic antidepressant treatment of neuropathic allodynia. *Biological Psychiatry* 2008, 63: 633-636.

5 **(11)** Benbouzid M, Pallage V, Rajalu M, Waltisperger E, Doridot S, Poisbeau P, Freund-Mercier MJ, Barrot M. Sciatic nerve cuffing in mice: a model of sustained neuropathic pain. *European Journal of Pain* 2008, 12: 591-599.

(12) Inoue M, Rashid MH, Fujita R, Contos JJ, Chun J, Ueda H. Initiation of neuropathic pain requires lysophosphatidic acid receptor signalling. *Nature Medicine* 2004; 10: 712-718.

10

REIVINDICACIONES

1. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización en el tratamiento de la alodinia neuropática crónica, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico de manera crónica.
2. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con la reivindicación 1, seleccionándose dicho agonista beta-2 adrenérgico entre el grupo que comprende bambuterol, bitolterol, clenbuterol, fenoterol, formoterol, isoproterenol, levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, procaterol, reproterol, ritodrina, salbutamol, salmeterol, terbutalina o tulobuterol.
3. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico una, dos o tres veces al día.
4. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico a una dosis comprendida entre 0,01 y 20 mg/día.
5. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico a una dosis comprendida entre 0,05 y 15 mg/día.
6. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico a una dosis comprendida entre 0,05 y 10 mg/día.
7. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico a una dosis comprendida entre 0,1 y 5 mg/día.
8. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, siendo dicho agonista beta-2 adrenérgico de uso humano.
9. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, siendo dicho agonista beta-2 adrenérgico de uso veterinario.
10. Agonista beta-2 adrenérgico como principio activo para su utilización de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, administrándose dicho agonista beta-2 adrenérgico en una forma seleccionada entre el grupo que comprende una forma inyectable, un jarabe, una solución oral, un comprimido, un comprimido divisible, un comprimido recubierto con película, un comprimido recubierto con película divisible, un comprimido gastrorresistente, un comprimido recubierto, un comprimido dispersable, un comprimido masticable, un envase tipo blister termoformado, una cápsula de gelatina dura, un producto efervescente, un comprimido efervescente divisible, un polvo para solución oral, gránulos para suspensión oral, una suspensión para inhalación, un polvo para inhalación, una solución para inhalación por nebulizador, un polvo para inhalación en cápsula de gelatina dura, un supositorio, un colirio, una crema, una pomada, un gel, un pulverizado, un dispositivo transdérmico o parche, una pastilla, una solución para perfusión intravenosa, para administración peridural o intra- o peri-articular o periférica o regional o paravertebral, o administración intratecal, o infiltración.

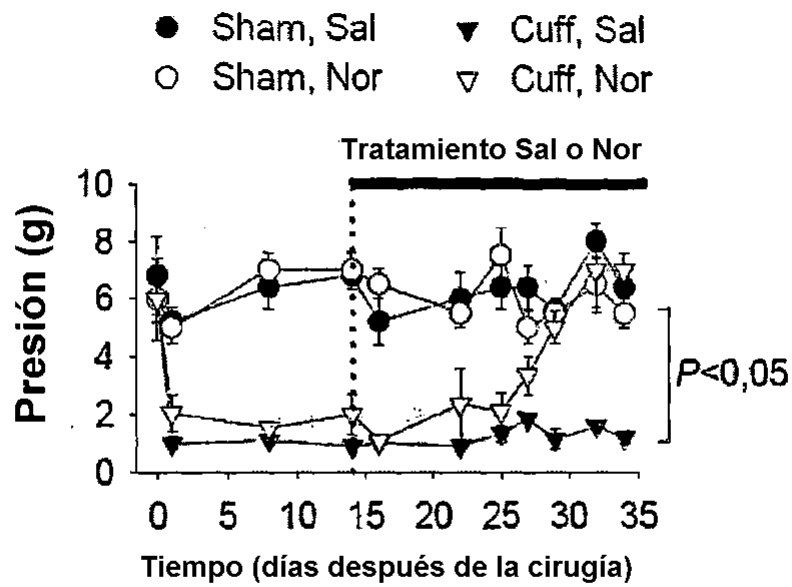


Figura 1

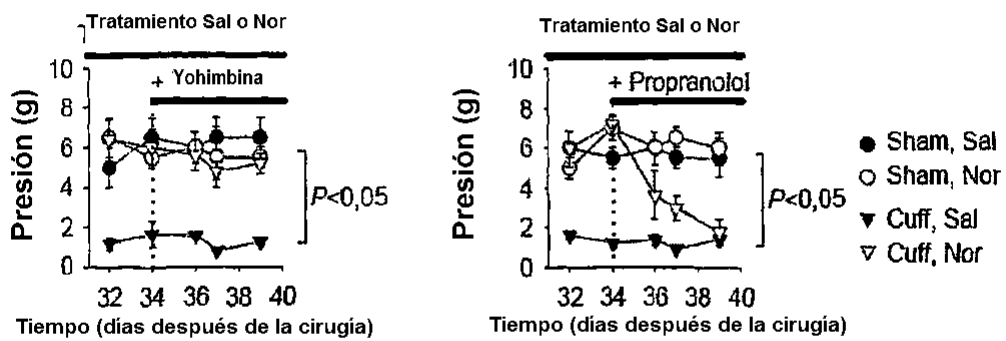


Figura 2

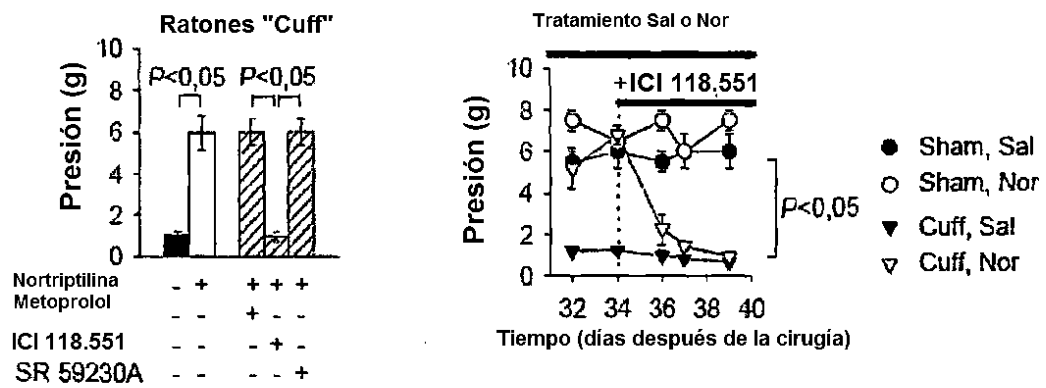


Figura 3

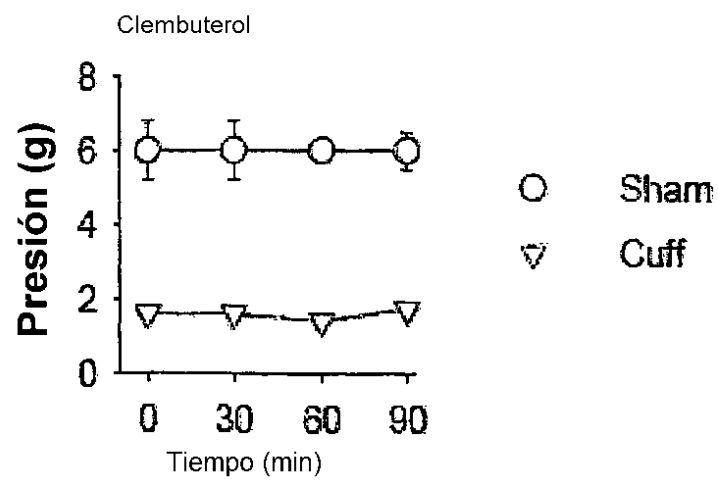


Figura 4

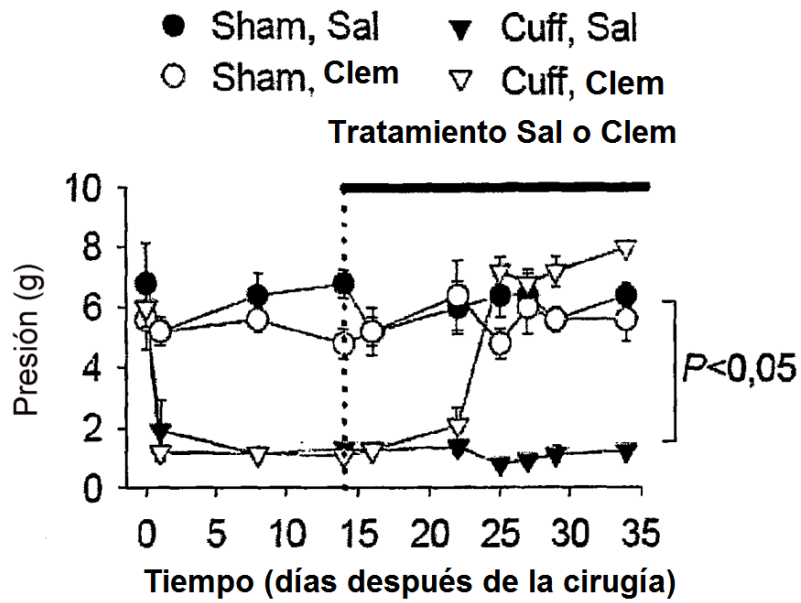


Figura 5

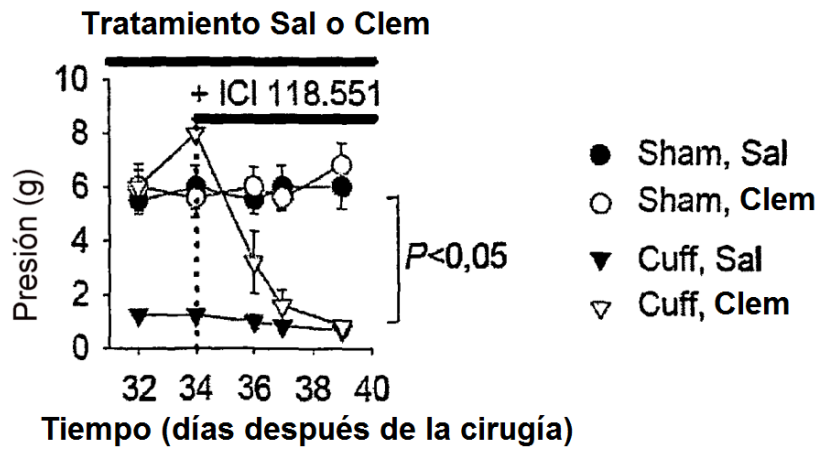


Figura 6

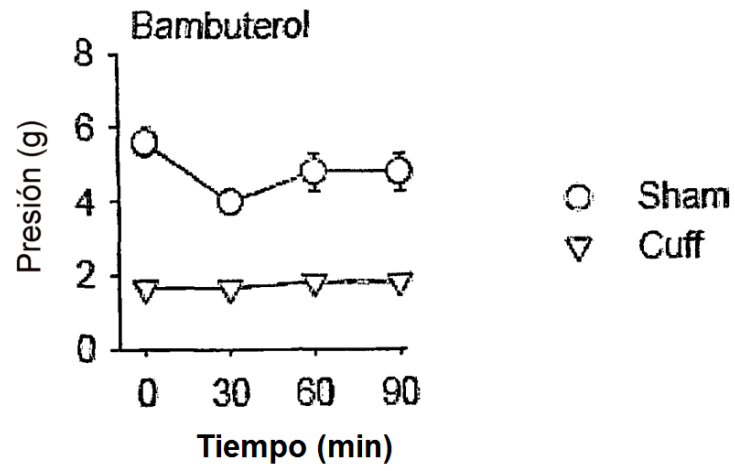


Figura 7

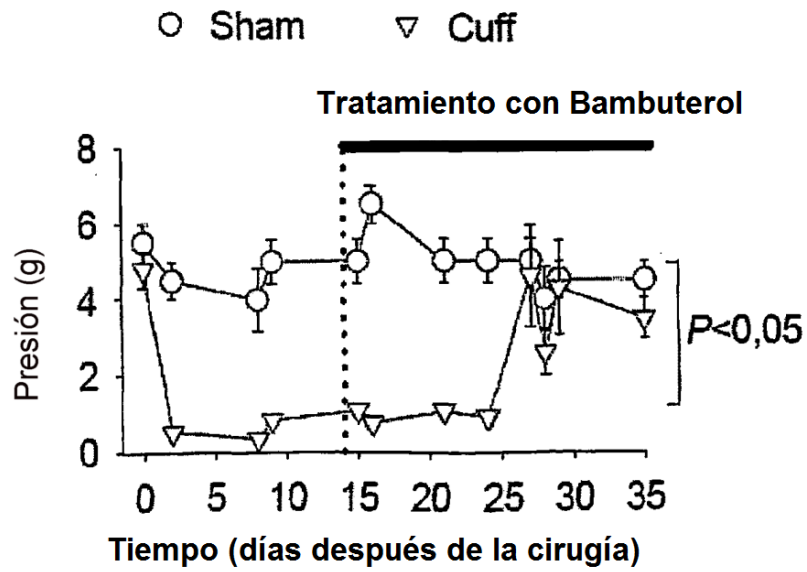


Figura 8

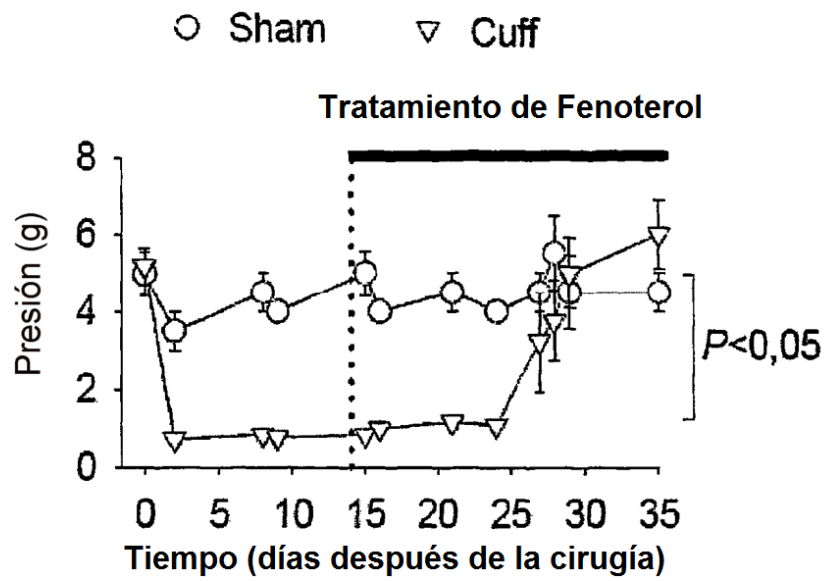


Figura 9

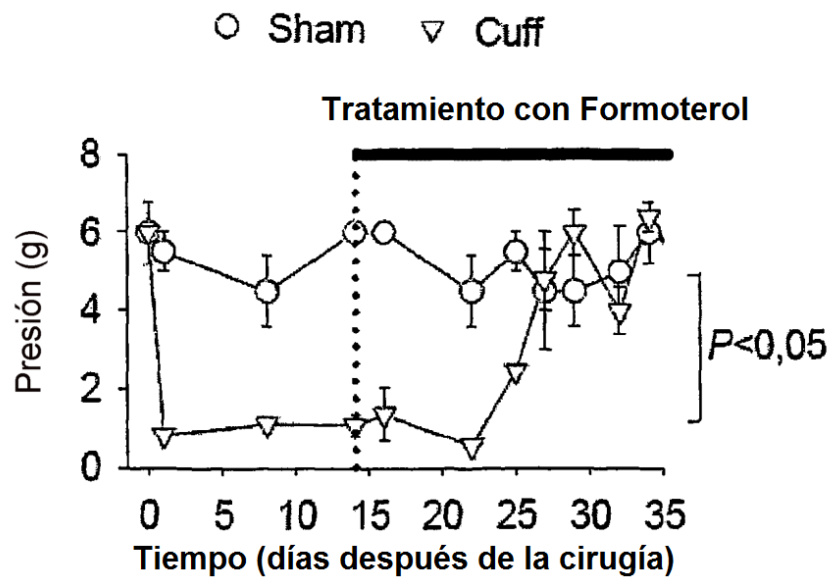


Figura 10

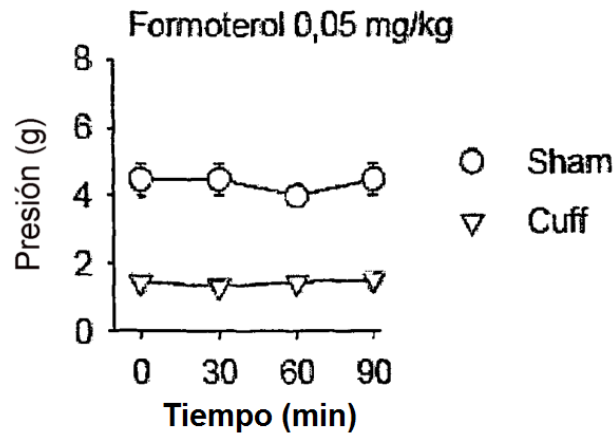


Figura 11

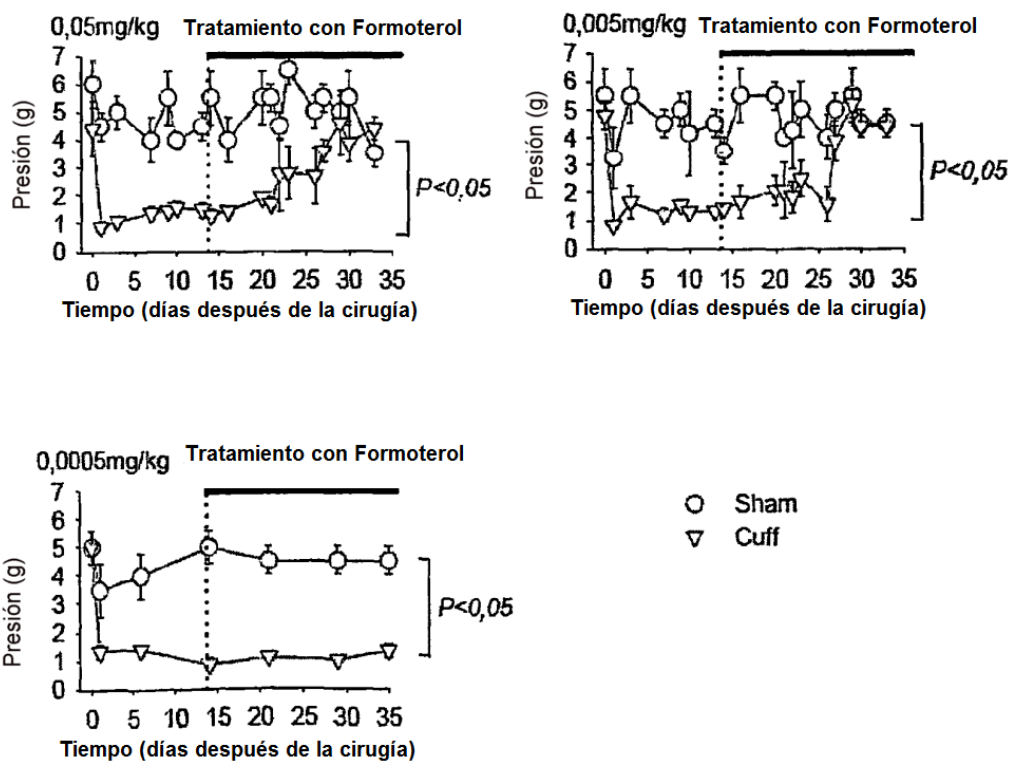


Figura 12

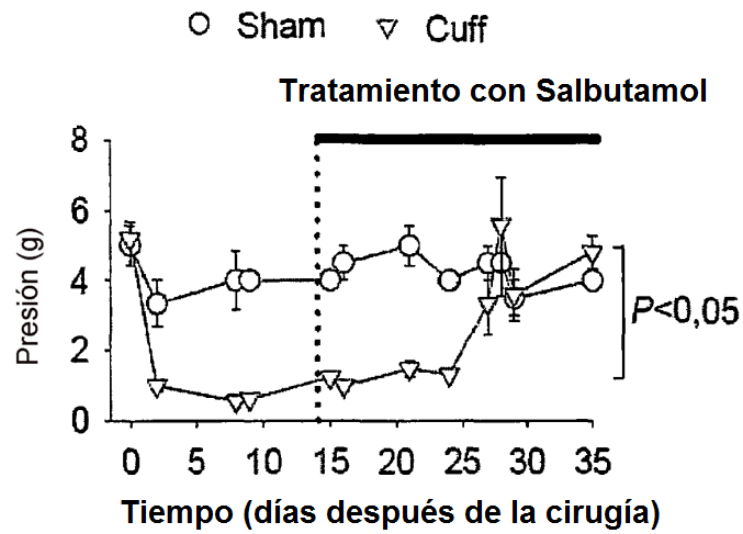
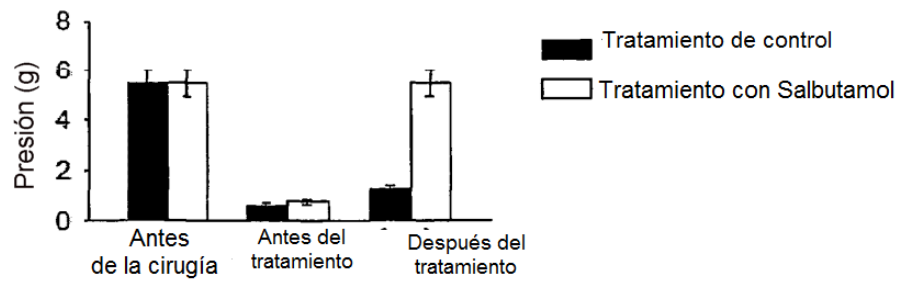


Figura 13

Pata derecha de los animales neuopáticos ("Cuff")



Pata derecha de los animales no neuopáticos ("Sham")

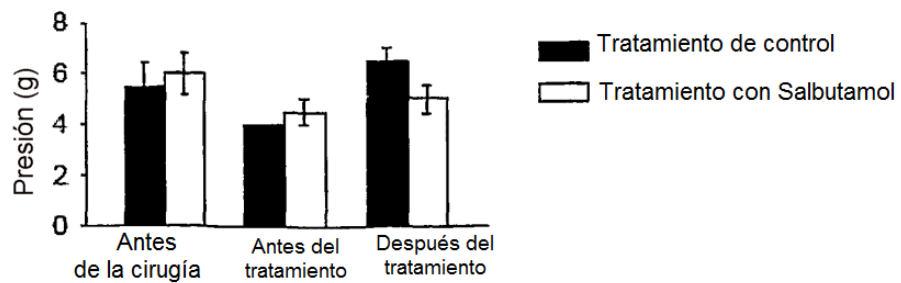


Figura 14

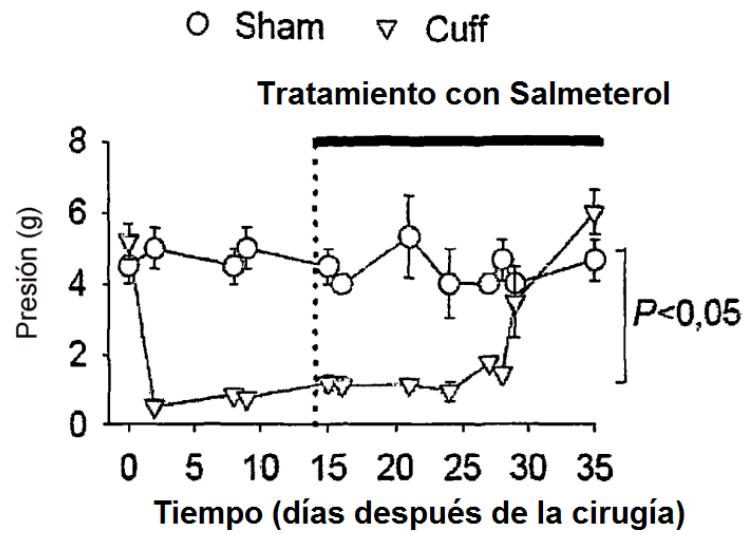


Figura 15

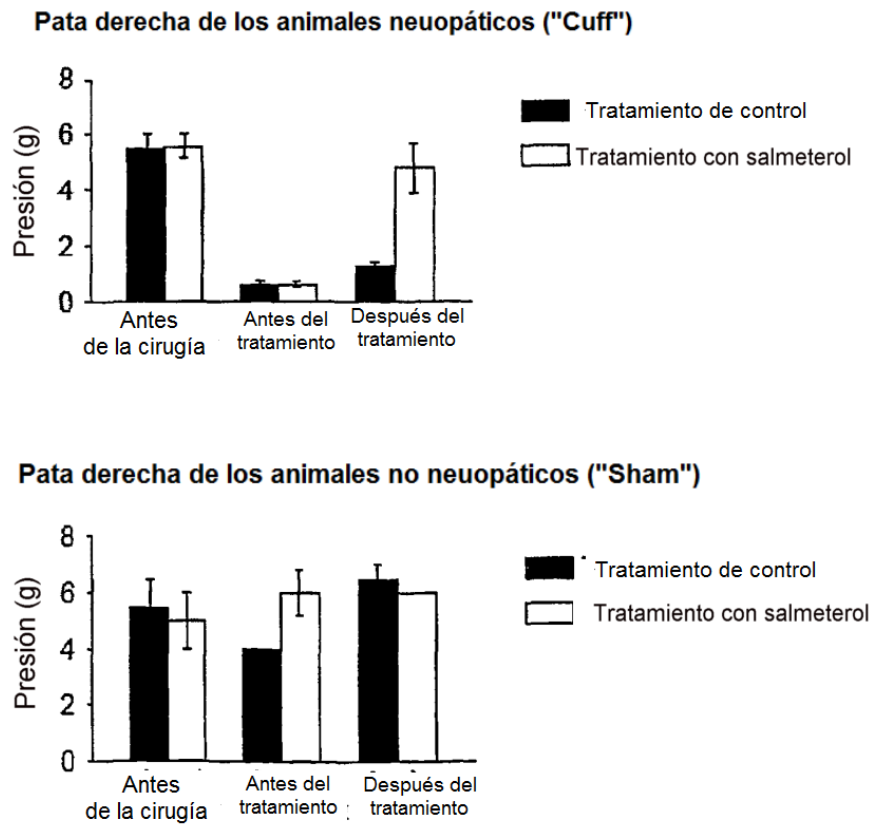


Figura 16

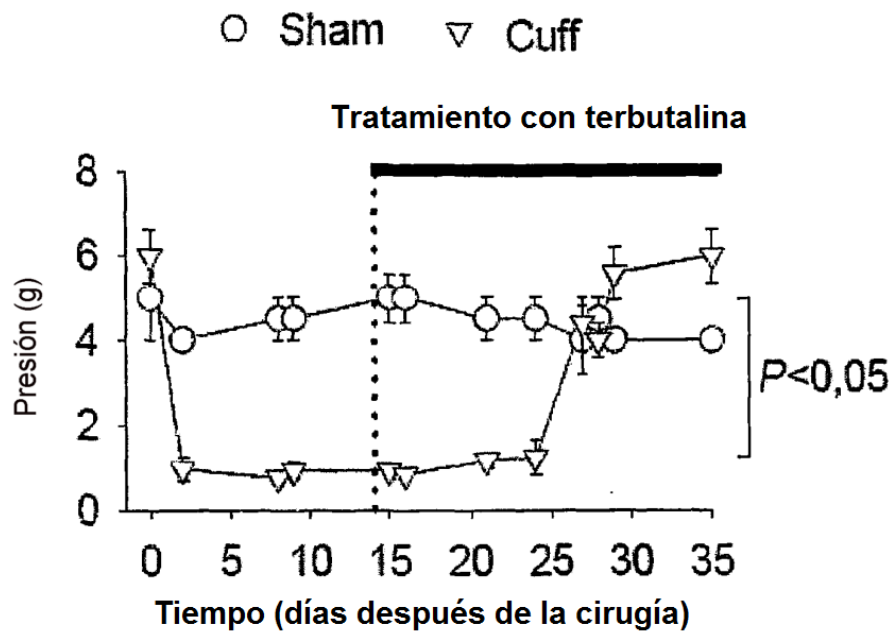


Figura 17

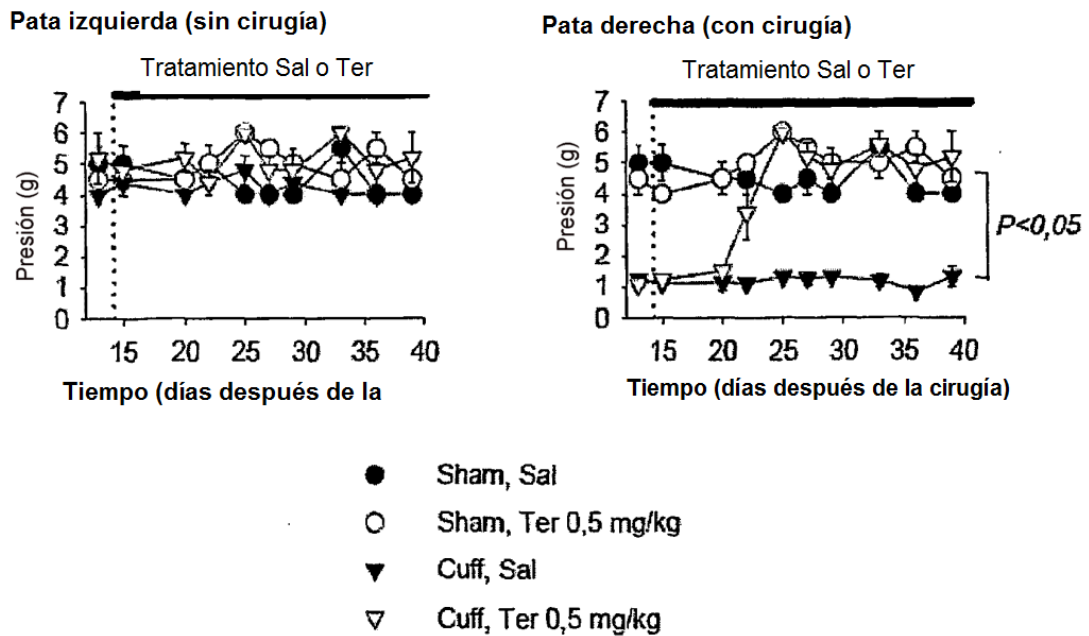


Figura 18

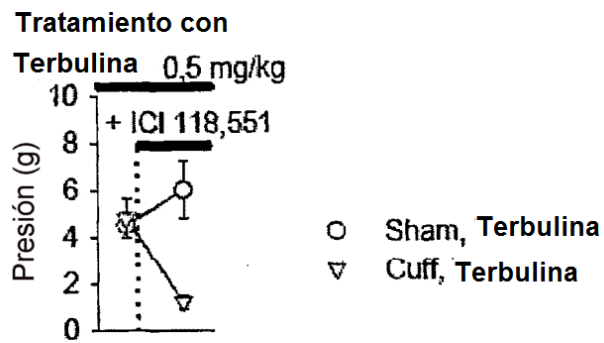


Figura 19

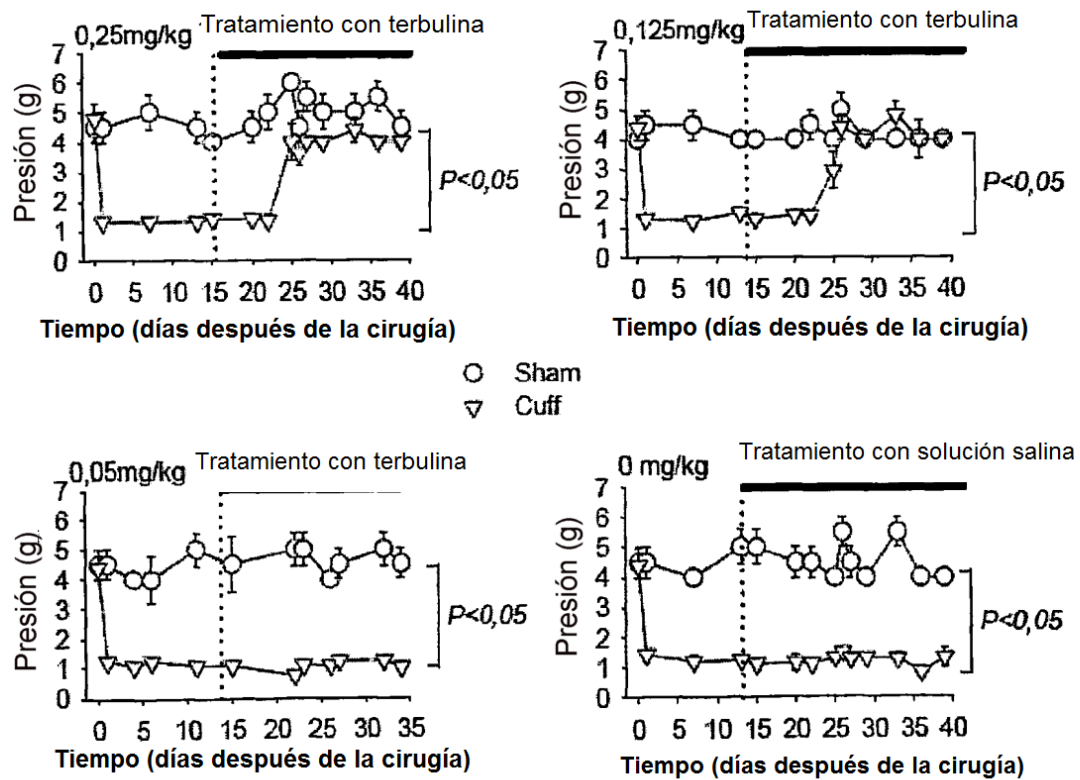
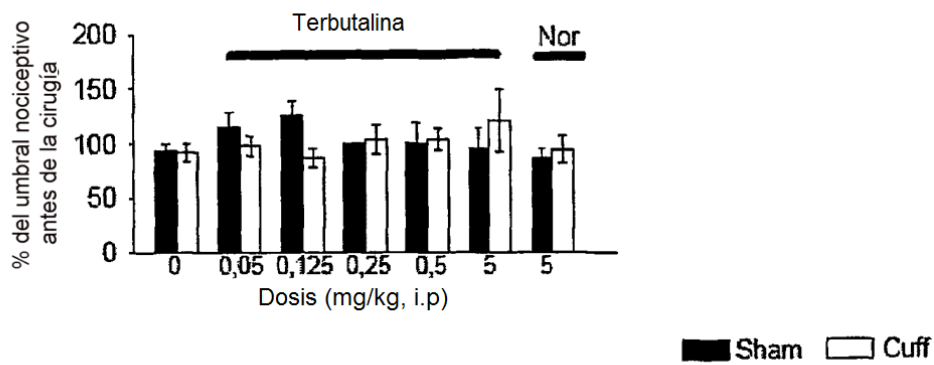


Figura 20

Pata izquierda (sin cirugía)



Pata derecha (con cirugía)

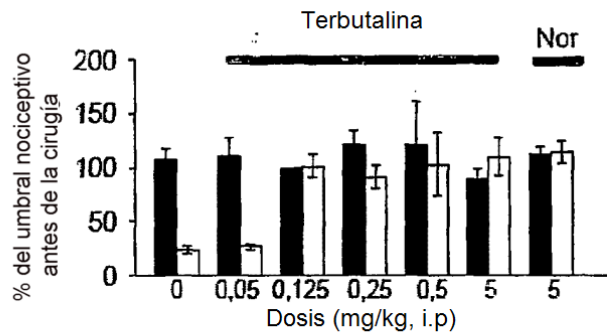


Figura 21

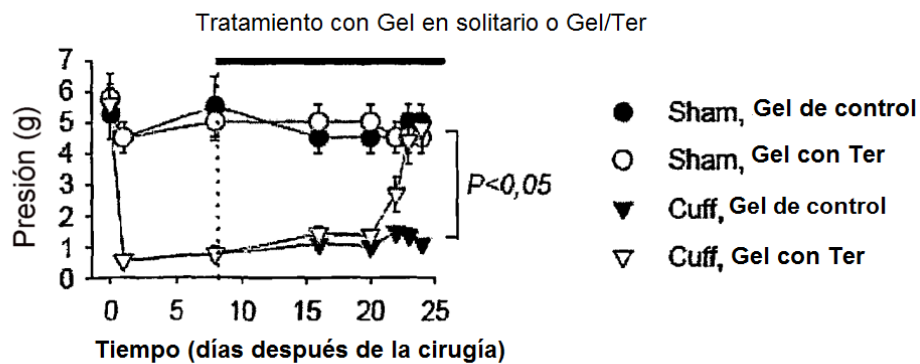


Figura 22

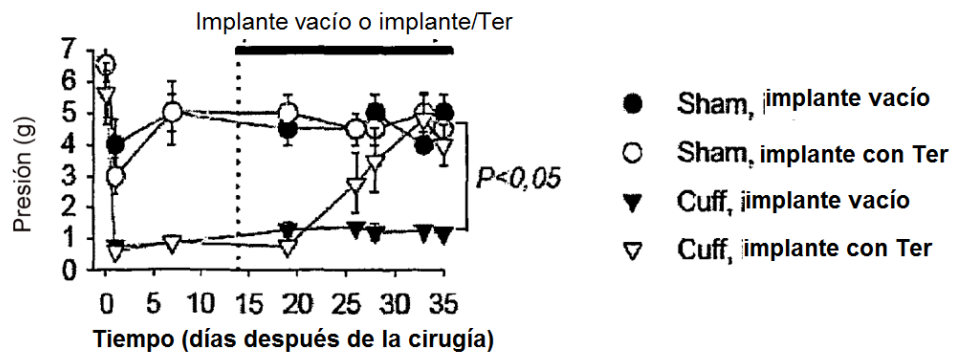


Figura 23

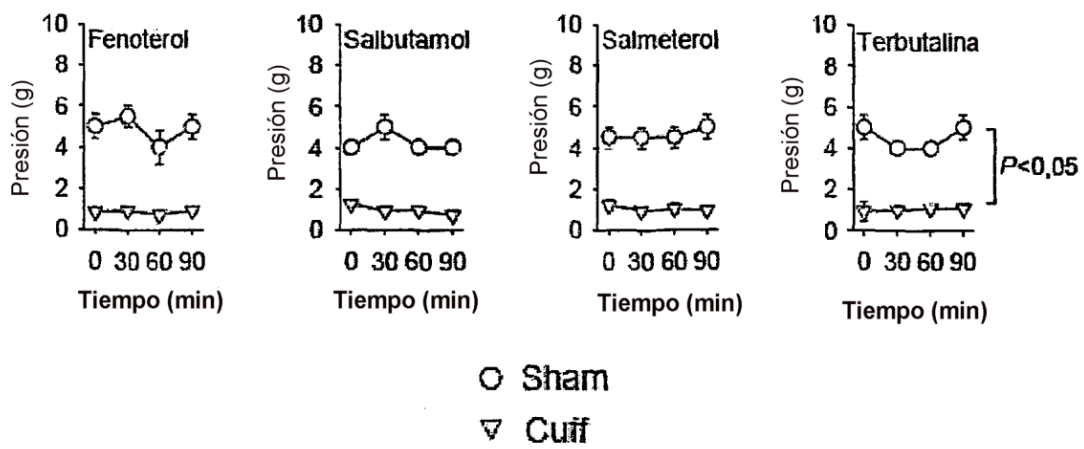


Figura 24

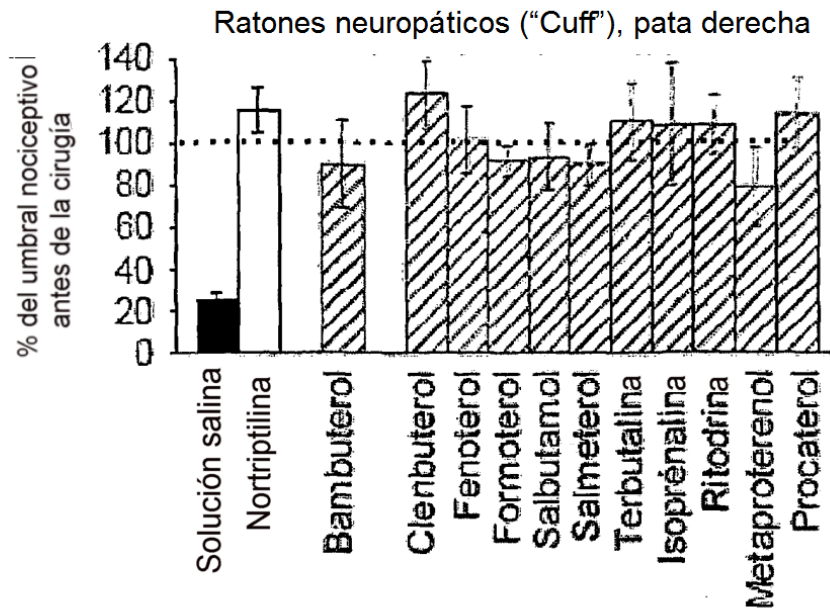


Figura 25

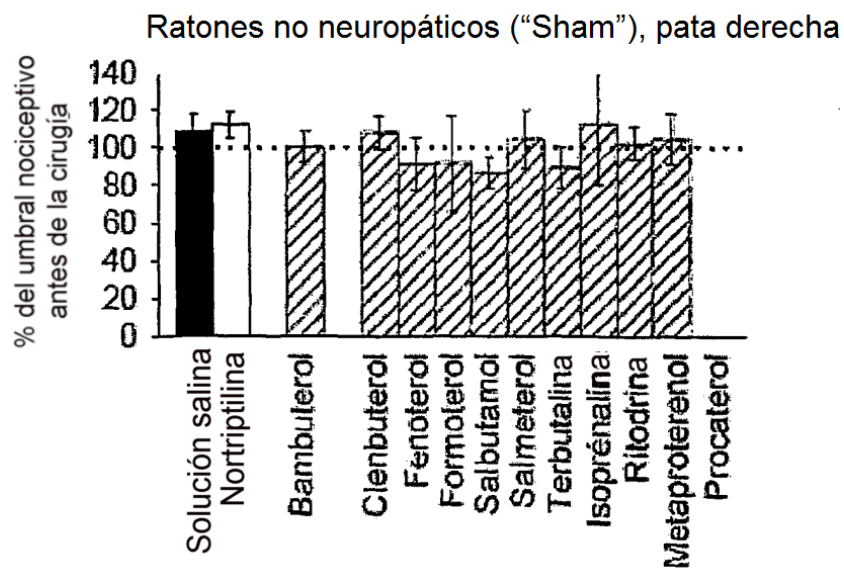


Figura 26

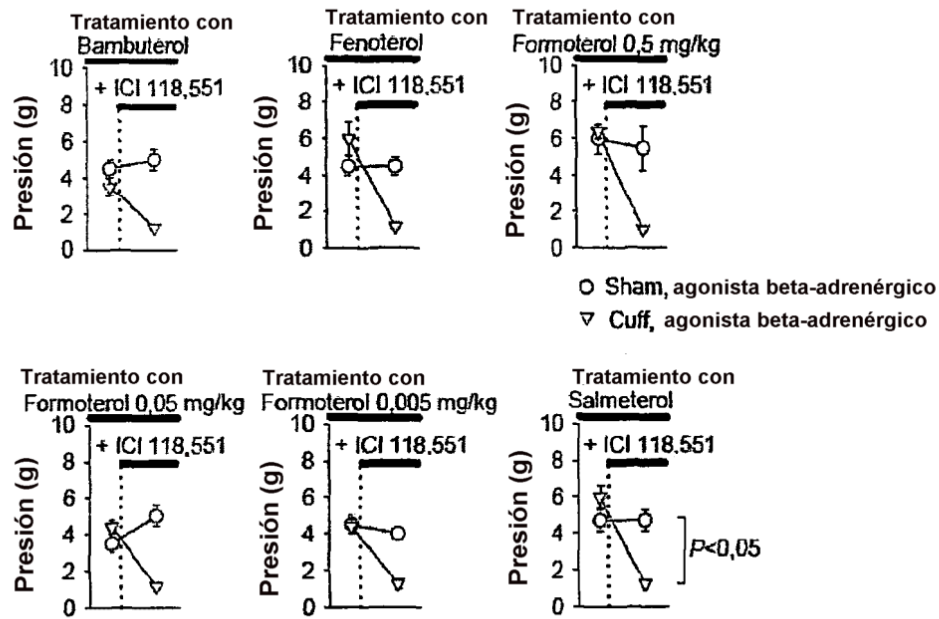


Figura 27

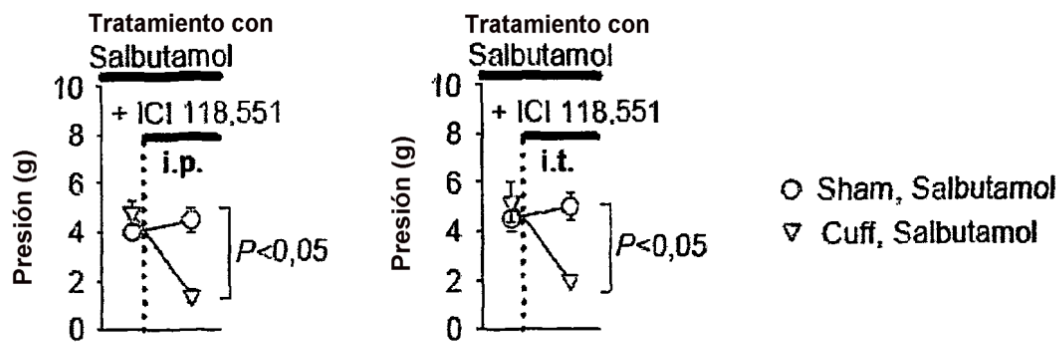


Figura 28

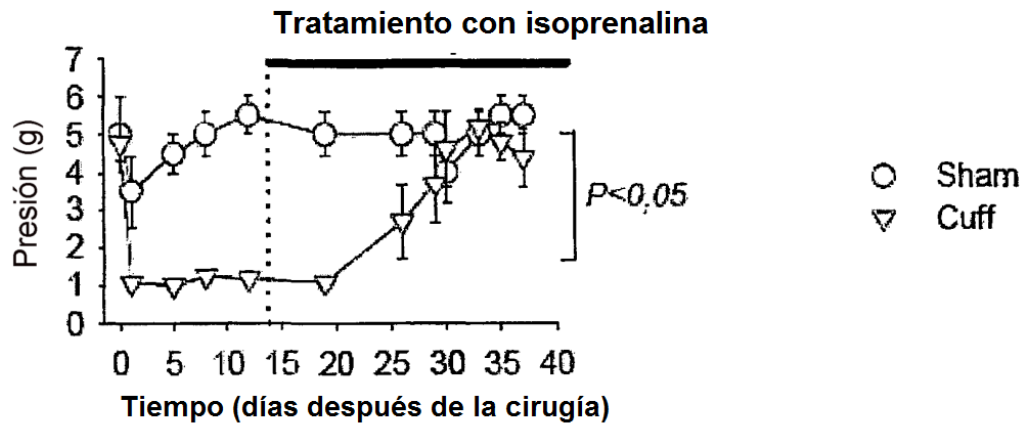


Figura 29

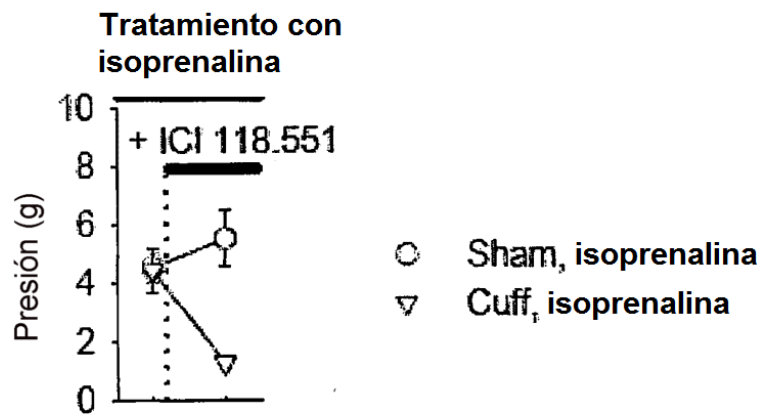


Figura 30

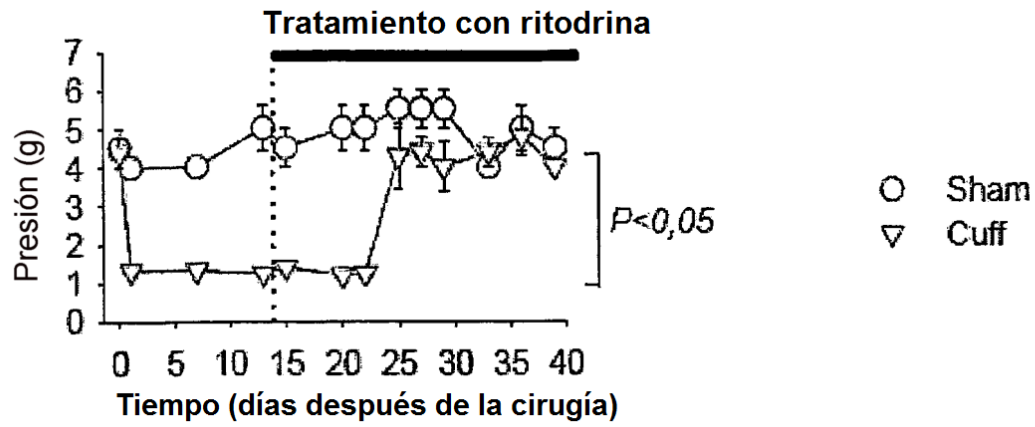


Figura 31

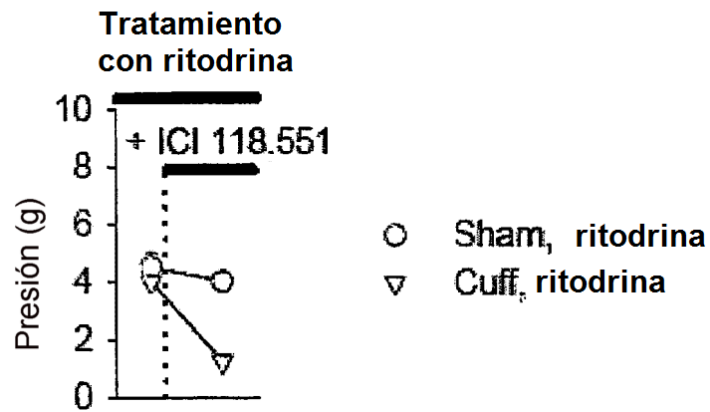


Figura 32

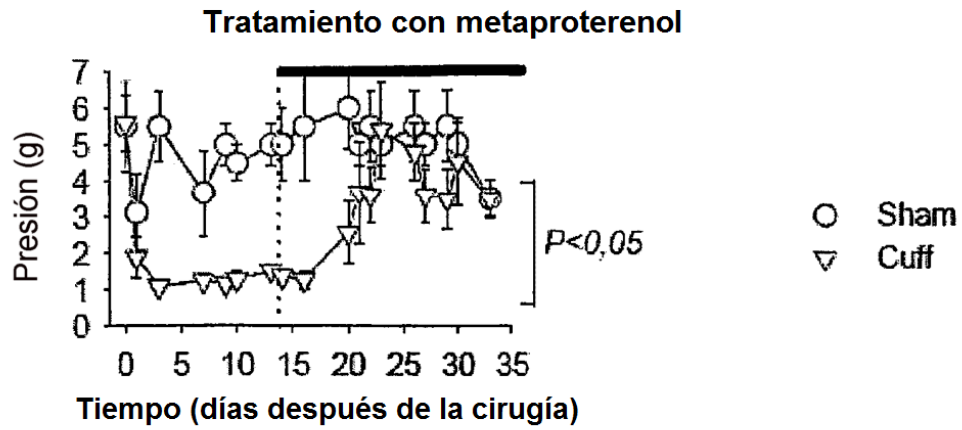


Figura 33

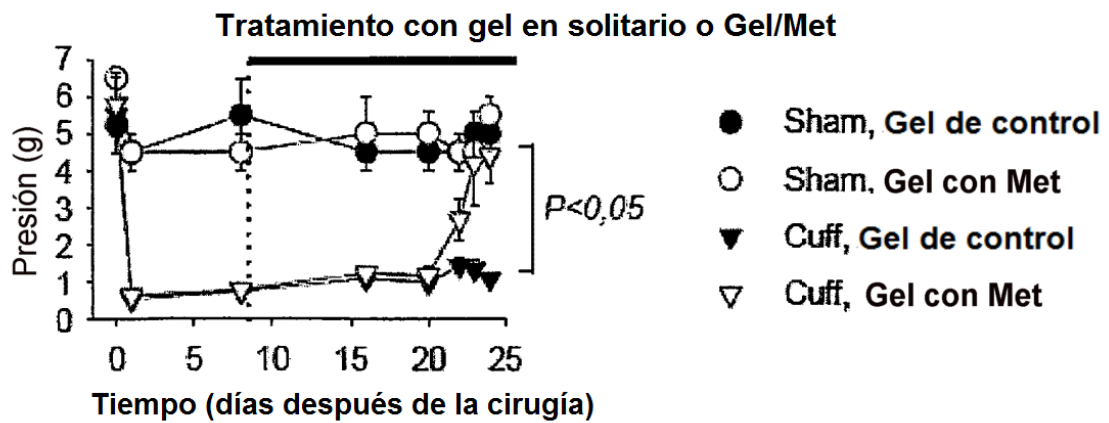


Figura 34

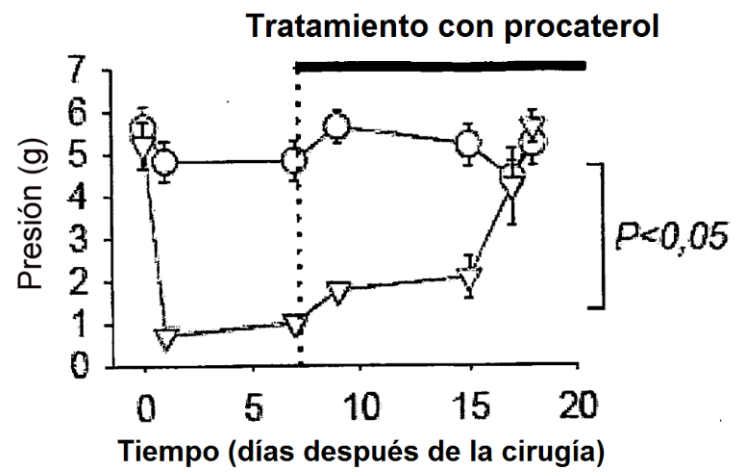


Figura 35