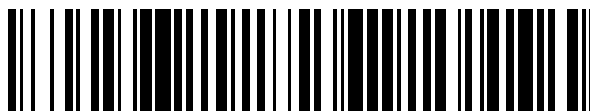


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 410 588**

51 Int. Cl.:

**A61P 25/24** (2006.01)

**A61K 31/00** (2006.01)

**A61K 31/20** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.05.2005 E 05742109 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.04.2013 EP 1755743**

54 Título: **Beta hidroxibutirato y derivados para el tratamiento de la depresión y ansiedad**

30 Prioridad:

**12.05.2004 US 570137 P**

**20.09.2004 GB 0420856**

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

**02.07.2013**

73 Titular/es:

**BTG INTERNATIONAL LIMITED (100.0%)**

**5 Fleet Place**

**London EC4M 7RD , GB**

72 Inventor/es:

**GREENWOOD, DAVID y**

**DIMPFL, WILFRIED**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 410 588 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**

Beta hidroxibutirato y derivados para el tratamiento de la depresión y ansiedad

5 La presente invención se refiere a compuestos y composiciones que tienen el efecto de modular la actividad del sistema nervioso central de mamífero, tal como ejercer un efecto antidepresivo y tratar la ansiedad. La presente invención proporciona además el tratamiento de un paciente que necesita una terapia para una o más de depresión y ansiedad, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto o composición de la invención. Aún otro aspecto de la presente invención proporciona una potenciación del estado de ánimo de un sujeto mamífero, que comprende administrar una cantidad del compuesto o composición de la invención, suficiente para efectuar dicha potenciación.

10 Se sabe que los estados neurodegenerativos tanto agudos como crónicos de los mamíferos, por ejemplo, del hombre, pueden ser tratados provocando una cetosis. Dicha cetosis puede ser proporcionada por restricción de la dieta, por ejemplo, por inanición o exclusión de carbohidrato, o por administración de materiales cetogénicos, tales como triglicéridos, ácidos grasos libres, alcoholes (por ejemplo, butano-1,3-diol), acetoacetato y (R)-3-hidroxibutirato y sus productos de conjugación entre sí y con otros componentes, tales como, por ejemplo, ésteres y polímeros de estos. De esta manera, los materiales cetogénicos producen una cetosis fisiológicamente aceptable cuando se administran a un paciente.

15 Otras indicaciones terapéuticas para la aplicación de cetosis incluyen la epilepsia, la diabetes, distrofias y trastornos mitocondriales. En el caso de la epilepsia, durante muchos años se ha aplicado con cierto éxito una dieta cetogénica en el tratamiento de ataques convulsivos incurables, aunque el mecanismo mediante el cual se alcanza la supresión de los ataques convulsivos es aún incierto.

20 Los presentes inventores han estado estudiando el modo de acción de materiales cetogénicos en el daño del CNS y, particularmente, han estudiado la actividad eléctrica del cerebro entero de mamífero con vistas a comprender más completamente su efecto global sobre el cerebro en funcionamiento. Sorprendentemente, han hallado ahora que la cetosis provoca cambios completamente imprevistos en la actividad eléctrica del cerebro, de tal modo que resulta evidente que tanto el estado de ánimo, como la cognición y la tolerancia al dolor resultan afectados de un modo positivo.

25 Se ha demostrado que el análisis de potenciales de campo del cerebro ("Tele-Stereo-EEG") es una herramienta muy sensible para la caracterización de efectos de fármacos sobre el sistema nervioso central (Dimpfel et al., 1986). Después de la administración de un fármaco centralmente activo, los cambios cuantitativos en los potenciales de campo del cerebro pueden ser considerados como una huella dactilar característica de ese fármaco particular. Se han obtenido las "huellas dactilares" de más de 100 compuestos, incluyendo 8 categorías farmacológicas establecidas; por ejemplo, analgésicos, antidepresivos, neurolépticos, estimulantes, tranquilizantes, sedantes y narcóticos. Dosis diferentes del mismo fármaco causan cambios cuantitativos en la potencia eléctrica. Por lo tanto, esta metodología permite también demostrar posibles relaciones de dosis-respuesta. La comparación directa con fármacos de referencia específicos, o mediante un análisis discriminante con referencia a una amplia base de datos de huellas dactilares, permite la detección de cualquier posible similitud con fármacos establecidos. En general, las "huellas dactilares" muestran notables diferencias en cuanto a los fármacos prescritos para indicaciones diferentes, y son similares en cuanto a los fármacos con una indicación similar ((Dimpfel, 2003). Además, el patrón de cambios por EEG en la rata es una herramienta útil para pronosticar posibles cambios en el espectro de potencias por EEG en seres humanos.

30 Aplicando esta técnica a la cetosis, particularmente a la provocada mediante la administración directa de la sal sódica del (R)-3-hidroxibutirato, los presentes inventores han sido capaces de mostrar claramente efectos de cerebro completo consistentes con las susodichas actividades antidepresiva, cognitiva y analgésica.

35 De este modo, en un primer aspecto de la presente invención, se proporciona el tratamiento de un sujeto que necesita terapia para la depresión y/o la ansiedad, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad de un material cetogénico según las reivindicaciones, suficiente para producir en el sujeto una cetosis suficiente para proporcionar un efecto antidepresivo y/o un efecto ansiolítico.

40 En el tratamiento para la depresión o la ansiedad, puede ser en el estado de ansiedad, un trastorno esquizoafectivo, un trastorno obsesivo-compulsivo, un trastorno de pánico, un trastorno de ansiedad social, un trastorno de ansiedad generalizada y un trastorno de estrés postraumático.

45 La cetosis producida es preferiblemente un estado en el que están elevados los niveles de las concentraciones de acetoacetato y (R)-3-hidroxibutirato, o está elevado el nivel de la concentración de uno de ellos, en la sangre del sujeto. Preferiblemente, la concentración total de estos "cuerpos cetónicos" en la sangre se eleva por encima de los niveles normales tras una comida a unos valores de entre 0,1 y 30 mM, más preferiblemente de entre 0,3 y 15 mM, aún más preferiblemente de entre 0,5 y 10 mM, y lo más preferiblemente de entre 3 y 8 mM. Con el fin de maximizar los niveles de dichos compuestos en el CNS, es deseable saturar el transportador por medio del cual el (R)-3-hidroxibutirato atraviesa la barrera hematoencefálica; esto se produce en un valor de entre 3 y 5 mM.

En la presente descripción, el material cetogénico puede ser cualquiera de los materiales utilizados en el tratamiento de la epilepsia refractaria, tales como cremas y grasas combinadas con poco carbohidrato y posiblemente mucha proteína, por ejemplo, como se expone en el documento US 6.207.856 (Veech). Sin embargo, con objeto de evitar las consecuencias indeseables de dichas dietas, los materiales descritos son seleccionados de entre acetoacetato, (R)-3-hidroxi-butanato, sales, ésteres y oligómeros de estos y productos de conjugación de estos con otros componentes fisiológicamente aceptables, tales como carnitina y otros aminoácidos. Otros materiales aceptables son los precursores metabólicos de estas cetonas, tales como (R)-1,3-butanodiol, triacetina, ácidos grasos libres y triglicéridos. Los compuestos de acuerdo con la invención son únicamente los reivindicados.

Se conocen materiales particulares a partir de las referencias siguientes que se exponen más adelante en la Tabla 1. Las dosis y los formatos son como se describen en los documentos identificados en la tabla. Típicamente, se puede determinar la cantidad de material cetogénico requerida midiendo directamente los niveles en sangre usando un dispositivo de medida tal como el Medisense Precision Extra (Medisense Inc., 4A Crosby Drive, Bedford, MA 01730); BioScanner 2000 (antes llamado MTM BioScanner 1000) de Polymer Technology Systems Inc., Indianápolis, Indiana. De este modo, se puede determinar la cantidad de cetosis derivada de una dosis establecida, y se puede repetir esa dosis para ajustarla al individuo.

Los intervalos típicos de las dosis podrían estar, por ejemplo, en el intervalo de 5 a 5000 mg/kg de peso corporal, particularmente para un material que contiene (R)-3-hidroxi-butanato, tal como (R)-3-hidroxi-butanato oligómero o sus ésteres con, por ejemplo, glicerol o (R)-butano-1,3-diol, más preferiblemente de 30 a 2000 mg/kg de peso corporal, lo más preferiblemente de 50 a 1000 mg/kg de peso corporal al día. Las dosis se toman convenientemente con las comidas cuando se administran oralmente, convenientemente antes o en el momento de dichas comidas. Se alcanzan más fácilmente niveles sanguíneos regulares mediante tres o cuatro administraciones al día.

En un segundo aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un material cetogénico según las reivindicaciones para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la depresión y/o la ansiedad.

De nuevo, los materiales cetogénicos adecuados son como se describen para el primer aspecto de la invención y como se ejemplifican en la Tabla 1.

Un tercer aspecto de la presente invención proporciona una composición farmacéutica para tratar la depresión y/o la ansiedad, que comprende como ingrediente activo un material cetogénico según las reivindicaciones. La composición incluye preferiblemente materiales diluyentes, excipientes y/o vehiculares.

TABLA 1

Material	Tipo	Referencia
(R)-3-hidroxi-butanato sódico	Sal	US 4579955 US 4771074
(R)-1,3-butanodiol	Precursor metabólico	Gueldry et al. (1994), Metabolic Brain Disease, volumen 9, nº 2
Acetoacetilbutanodiol	Precursor metabólico	US 4997976 US 5126373
BHB dímero y trímero	Precursor metabólico	JP 5009185 JP 2885261
Acetoacetiltri-3HB	Precursor metabólico	US 6207856
Triglicérido de cadena media	Precursor metabólico	WO 01/82928
Triólido	Precursor metabólico	WO 00/15216 WO 00/04895
BHB-triglicérido	Precursor metabólico	US 5420335 US 6306828
Múltimeros de BHB	Precursor metabólico	WO 00/14985

Únicamente los compuestos reivindicados son parte de la invención.

La presente invención será ahora descrita por medio de los Ejemplos y Figuras siguientes. A la luz de estos, a los expertos en la técnica se les ocurrirán otras realizaciones que caigan dentro del alcance de las presentes reivindicaciones.

**Figuras.**

Figura 1: Estadística F aproximada durante varios periodos de tiempo después de la aplicación s.c. de una sola dosis de BHB (30, 100, 300, 600 y 1000 mg/kg de peso corporal) y bicarbonato Na 20 mM, pHs de 8,4 y 12,5. Se estimó la varianza/covarianza basándose en 88 grupos de parte de nuestra base de datos de fármacos de referencia, con un total de 674 experimentos llevados a cabo bajo idénticas condiciones. Variables: intervalo de

frecuencias-región cerebral; \*F > 1,64 corresponde a  $p < 0,1$  y \*\*F > 2,10 corresponde a  $p < 0,05$  y \*\*\*F > 2,80 corresponde a  $p < 0,01$ . Para la evaluación de 24 variables: \*F > 1,33 corresponde a  $p < 0,1$  y \*\*F > 1,52 corresponde a  $p < 0,05$  y \*\*\*F > 1,79 corresponde a  $p < 0,01$ . Número de experimentos: n = 11 (30 mg/kg); n = 12 (100 mg/kg); n = 12 (300 mg/kg); n = 11 (600 mg/kg); n = 11 (1000 mg/kg) y bicarbonato Na 20 mM, n = 11 (pH de 8,4), n = 11 (pH de 12,5).

Figura 2: Acción del vehículo (n = 13) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Definición de intervalos de frecuencias: delta (1,25-4,5 Hz, rojo), theta (4,75-6,75 Hz, naranja), alfa1 (7,00-9,50 Hz, amarillo), alfa2 (9,75-12,50 Hz, verde), beta1 (12,75-18,50 Hz, azul claro), beta2 (18,75-35,00 Hz, azul oscuro).

Figura 3: Acción del bicarbonato Na 20 mM, pH de 8,4 (n = 11) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 4: Acción del bicarbonato Na 20 mM, pH de 12,5 (n = 12) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 5: Acción de 30 mg de BHB/kg (n = 11) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 6: Acción de 100 mg de BHB/kg (n = 12) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 7: Acción de 300 mg de BHB/kg (n = 12) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 8: Acción de 600 mg de BHB/kg (n = 11) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 9: Acción de 1000 mg de BHB/kg (n = 11) sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata. Cambios temporalmente dependientes (porcentaje de cambio de los valores previos a la administración del fármaco) en los patrones espectrales por EEG (60 minutos cada uno) durante 300 minutos después de la aplicación i.p. de una sola dosis. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 10: Relación de dosis de BHB (intervalo de 30 – 1000 mg/kg); vehículo y bicarbonato Na (20 mM, pHs de 8,4 y 12,5) actuando sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata en comparación con disolución salina en el período de tiempo de 5 – 65 minutos. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 11: Relación de dosis de BHB (intervalo de 30 – 1000 mg/kg); vehículo y bicarbonato Na (20 mM, pHs de 8,4 y 12,5) actuando sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata en comparación con disolución salina en el período de tiempo de 65 – 125 minutos. Véase la Figura 2 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 12: Relación de dosis de BHB (intervalo de 0 – 1000 mg/kg); actuando sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata en comparación con disolución salina en el período de tiempo de 5 – 65 minutos. Banda de frecuencias seleccionada: delta.

Figura 13: Relación de dosis de BHB (intervalo de 0 – 1000 mg/kg); actuando sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata en comparación con disolución salina en el período de tiempo de 5 – 65 minutos. Banda de frecuencias seleccionada: alfa1.

Figura 14: Relación de dosis de BHB (intervalo de 0 – 1000 mg/kg); actuando sobre la potencia eléctrica de cuatro zonas de cerebro de rata en comparación con disolución salina en el período de tiempo de 5 – 65 minutos. Banda de frecuencias seleccionada: alfa2.

Figura 15: Huellas dactilares cuantitativas por EEG (patrón de frecuencias por EEG) de fármacos estándares [diazepam (0,5 mg/kg; n = 6), cafeína (5 mg/kg; n = 6), clorpromazina (0,5 mg/kg; n = 6), LSD (0,025 mg/kg; n = 6), fentanilo (0,075 mg/kg; n = 6), imipramina (10 mg/kg; n = 5), ácido valproico (75 mg/kg; n = 8) y disolución salina (NaCl al 0,9%; n = 12)] después de la aplicación de una sola dosis durante los minutos 20<sup>o</sup> a 50<sup>o</sup>. Véase la Figura 1 para la definición de los intervalos de frecuencias.

Figura 16: Comparación del efecto de BHB con el de varios fármacos de referencia con un perfil similar.

### Ejemplos experimentales.

Se investigaron cinco dosis intraperitoneales (30 mg/kg, 100 mg/kg, 300 mg/kg, 600 mg/kg y 1000 mg/kg de peso corporal) de (R)-3-hidroxitirato (BHB) sódico utilizando el modelo animal "Tele-Stereo-EEG", que consiste en el registro continuo de potenciales de campo intracerebrales en una rata que se mueve libremente. No se pudieron medir efectos al utilizar 1 ml/kg de una disolución que contenía bicarbonato Na 20 mM (pH de 8,4 o pH de 12,5) con fines de testigo. Se observaron consistentemente cambios dependientes de la dosis y el tiempo bien definidos (disminución de potencia eléctrica en los intervalos delta, theta, alfa y beta1) durante 2 a 3 horas después de la aplicación de 100 mg/kg o más. Los cambios más acusados se observaron en el intervalo alfa2. Los cambios eran estadísticamente muy significativos en los niveles de dosis de 300 – 1000 mg/kg. El patrón de cambios observado con BHB hace pensar en los previamente comunicados efectos por EEG que se ven después de la administración de ciertos fármacos conocidos que poseen, por ejemplo, propiedades potenciadoras de la cognición, antidepresivas y analgésicas.

#### Método y materiales

Se implantaron 4 electrodos bipolares concéntricos de acero a ratas Fisher adultas (4-6 meses de edad y adaptadas a ciclos de día - noche, con un peso de aproximadamente 400 g) usando un procedimiento quirúrgico estereotáctico (Paxinos y Watson, 1982). Los cuatro electrodos se colocaron 3 mm lateralmente dentro del hemisferio izquierdo. Las coordenadas anteriores fueron 12,2, 5,7, 9,7 y 3,7 mm para el córtex frontal, el hipocampo, el cuerpo estriado y la formación reticular, respectivamente. Una placa base que portaba los electrodos y un enchufe de cinco polos fue fijada al cráneo mediante cemento dental unido a 3 tornillos de acero fijados al cráneo. Se dieron dos semanas a los animales para que se recuperaran del procedimiento quirúrgico. Los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con las Directrices de la Autoridad Sanitaria Alemana y con la aprobación de la autoridad local.

Se registraron señales del córtex frontal, el hipocampo, el cuerpo estriado y la formación reticular por EEG y se amplificaron y procesaron del modo previamente descrito (véase Dimpfel et al., 1986). Después del rechazo automático de artefactos, se recogieron señales en barridos de 4 segundos de duración y se sometieron a una transformación rápida de Fourier. Los espectros de potencia eléctrica resultantes fueron divididos en 6 intervalos de frecuencias: delta (0,8 - 4,5 Hz); theta (4,75 - 6,75 Hz); alfa1 (7,00 - 9,50 Hz); alfa2 (9,75 - 12,50 Hz); beta (12,75 - 18,50 Hz); y beta2 (18,75 - 35,00 Hz). Se promediaron los espectros en pasos de 3 minutos cada uno y se presentaron en conexión. En un procedimiento fuera de conexión, se promediaron los espectros para obtener periodos de 15 minutos o más para un análisis estadístico ulterior.

Se administraron intraperitonealmente cinco dosis de BHB (30, 100, 300, 600 y 1000 mg/kg de peso corporal) (suministrado por Solvias AG, CH 4002 Basel, Suiza; lote n° SO-1058.047.1.120) y un testigo vehicular [disolución salina al 0,9% (peso/volumen)] a un grupo de 12 animales utilizando un diseño híbrido con al menos 3 descansos de fármaco entre las aplicaciones. Se examinaron testigos adicionales consistentes en 1 ml/kg de una disolución que contenía bicarbonato Na 20 mM (con el pH ajustado a 8,4 y 12,5, obtenido por titulación con NaOH 1 N), para determinar posibles efectos debidos al pH alcalino de la disolución de BHB. Después de un periodo de 45 minutos antes de la administración del fármaco para el registro de la línea de base, se observaron continuamente los efectos del fármaco durante 300 minutos. Los cambios de potencia eléctrica ( $\mu V^2/W$ ) se expresan como % de los valores 45 minutos antes de la administración del fármaco. Se calcularon estadísticas multivariadas de acuerdo con Ahrens y Läuter (1974).

#### Resultados

##### Testigos de disolución salina normal y bicarbonato sódico

La administración intraperitoneal de disolución salina al 0,9% (peso/volumen) sólo causó cambios insignificantes menores en el espectro de potencias por EEG en comparación con los valores previos a la administración del fármaco (Figura 1). Asimismo, la inyección i.p. de 1 ml/kg de una disolución que contenía bicarbonato Na (pH de 8,4 o 12,5) no ejercía efectos significativos (Figuras 2 y 3).

##### (3R)-hidroxitirato sódico (BHB)

BHB (30 mg/kg de peso corporal). La administración de 30 mg de BHB/kg no ejerció efectos estadísticamente significativos sobre las frecuencias por EEG con respecto al testigo de disolución salina, y el BHB resultó además indistinguible del bicarbonato Na (Figura 4).

- 5 BHB (100 mg/kg de peso corporal). La administración de esta dosis mayor de BHB dio lugar a cambios de frecuencia, especialmente en el hipocampo y algo menos en la formación reticular. Todas las regiones mostraron una disminución de potencia eléctrica, principalmente con respecto a las frecuencias alfa2 y en menor grado con respecto a las frecuencias delta. En el hipocampo también disminuyeron las potencias theta, alfa1 y beta1 (Figura 5). Los efectos sólo duraron 1-2 horas. Sin embargo, estos cambios no fueron estadísticamente significativos (Tabla 1).
- 10 BHB (300 mg/kg de peso corporal). El BHB administrado i.p. en una cantidad de 300 mg/kg produjo un consistente patrón de cambios de frecuencia caracterizado por disminuciones en la potencia alfa2 por todas las regiones cerebrales. Además, la potencia delta cambió por todas las regiones pero en menor grado. El patrón de cambios (Figura 6) duró exactamente dos horas. Los cambios fueron estadísticamente significativos para el córtex frontal, el hipocampo y la formación reticular, pero no para el cuerpo estriado (Tabla 1).
- 15 BHB (600 mg/kg de peso corporal). El BHB administrado i.p. en una cantidad de 600 mg/kg produjo un patrón de cambios similar al visto tras la administración de 300 mg/kg. Los efectos duraron generalmente 2 horas salvo para la formación reticular, donde las disminuciones de potencia persistieron durante la tercera hora (Figura 7). Los resultados fueron estadísticamente muy significativos, incluyendo la primera hora en el cuerpo estriado. Considerando las 24 variables (6 frecuencias en las cuatro zonas cerebrales), el efecto global también resultó estadísticamente significativo (Tabla 1).
- 20 BHB (1000 mg/kg de peso corporal). La administración de 1000 mg/kg provocó un patrón de cambios idéntico pero con disminuciones de potencia más acusadas que continuaban en la tercera hora y, con respecto a la formación reticular, durante el tiempo experimental total de 5 horas (Figura 8). Estos cambios fueron de nuevo estadísticamente muy significativos, incluso para la 5ª hora en la formación reticular (Figura 1).
- En resumen, después de la administración de beta-hidroxibutirato con una dosis i.p. en el intervalo de 300 a 1000 mg/kg (Figura 9), se pudieron observar cambios estadísticamente significativos claramente dependientes de la dosis y el tiempo. En la Figura 10 a-c se muestran relaciones de dosis-respuesta para bandas de frecuencia particulares (delta, alfa1 y alfa2).
- 25 Una sola inyección intraperitoneal de BHB en una dosis en el intervalo de 100 a 1000 mg/kg provoca claros cambios relacionados con la dosis en el espectro de potencias por EEG en la rata que se mueve libremente. Estos cambios son estadísticamente significativos con 300 mg/kg, en comparación con el vehículo, en el córtex, el hipocampo y la formación reticular, y también con una dosis mayor en el cuerpo estriado (Tabla 1). Los efectos persisten durante 2 a 3 horas. Los cambios observados afectan a todas las frecuencias salvo al intervalo beta2, pero los principales efectos se ven en las frecuencias delta y alfa2.
- 30 Con respecto a los cambios de frecuencia específicos observados, se sabe por estudios previos que la actividad delta cambia predominantemente después de un tratamiento con fármacos que afectan al sistema colinérgico, tales como, por ejemplo, la escopolamina (aumento de potencia) y la fisostigmina (disminución seguida de un aumento retardado a causa del control presináptico de la liberación o como un rebote). La actividad theta aumenta en respuesta a fármacos, tales como, por ejemplo, la clonidina, que infrarregulan la actividad del sistema de la norepinefrina, que surge en el locus coeruleus, al interactuar con el receptor alfa2 adrenérgico presináptico (Dimpfel y Schober, 2001). Por lo tanto, un aumento de la actividad theta puede ser interpretado como un cese de la transmisión central de norepinefrina, una disminución que indica efectos de arousal. La actividad alfa1 puede ser modulada mediante fármacos que actúan en el sistema serotoninérgico central (resultados no publicados). Los aumentos de actividad alfa1 van a menudo acompañados de relajación, mientras que, por contraste, las disminuciones significan un estado de atención elevado. Además, las frecuencias alfa2 pueden ser influidas por fármacos que actúan sobre el sistema dopaminérgico. Esto ha sido ilustrado mediante los estudios con L-dopa, amfetamina o agonistas dopaminérgicos, por ejemplo, SKF 393 (Dimpfel et al., 1987). En general, las disminuciones de actividad alfa2 son consistentes con un estado aumentado de arousal.
- 35 40 45 Puesto que no hay un único neurotransmisor responsable de la conducta, parece que la relación o el equilibrio entre estas frecuencias es importante para el estado psicofisiológico del cerebro. Con objeto de ejemplificar esto, se ilustra en la Figura 8 un número de fármacos con indicaciones clínicas conocidas.
- 50 Las diferencias observadas con respecto a los cambios eléctricos provocados por diversos fármacos nos han conducido a la hipótesis de que el equilibrio de la acción de neurotransmisores se refleja en cambios del contenido de frecuencias de los potenciales de campo, es decir, la "huella dactilar eléctrica". Por lo tanto, se podría esperar que diferentes fármacos usados para la misma indicación provocaran similares cambios de actividad eléctrica del cerebro. En realidad, se ha mostrado que éste es el caso de los fármacos antidepresivos (Dimpfel et al., 1988) y los neurolépticos (Dimpfel et al., 1992), así como el de otras categorías farmacológicas (Dimpfel, 2003).
- 55 De acuerdo con esta hipótesis - basada en más de 30.000 horas de registros - el BHB en una dosis menor presenta similitud con las "huellas dactilares eléctricas" de la galantamina, un inhibidor de la acetilcolina esterasa, y también del antidepresivo paroxetina (3 mg/kg y 2 mg/kg, respectivamente; Figura 9). Por lo tanto, lo clasifica en grupos farmacológicos que poseen propiedades potenciadoras de la cognición y elevadoras del estado de ánimo, aunque la paroxetina también presenta efectos analgésicos. Además, el perfil después de dosis mayores de BHB hace pensar

en los efectos que se observan después de la administración de tramadol (10 mg/kg), otro fármaco con propiedades analgésicas (Figura 9).

5 También es posible la diferenciación estadística de la acción de fármacos usando la herramienta matemática del análisis discriminante. Al tener 6 intervalos de frecuencias y 4 zonas cerebrales diferentes, los cálculos se llevan a cabo con 24 variables. En la Figura 9 se muestran los resultados para un periodo de tiempo. Adviértase que, además de los 2 ejes de proyección, se representan resultados de la función discriminante tercera a quinta usando una mezcla aditiva de colores (similar a la utilizada en la TV en color). De este modo, no sólo se utiliza una proyección bidimensional para la clasificación de la "huella dactilar" por EEG sino también el color. Este análisis de los efectos del BHB por EEG también le sitúa en íntima proximidad con la paroxetina y el tramadol. Por lo tanto, se podría esperar una similar acción potenciadora de la cognición, antidepressiva y analgésica del BHB en seres humanos.

10 En resumen, el BHB en una dosis i.p. en el intervalo de 100 a 1000 mg/kg de peso corporal ejerce efectos consistentes sobre la huella dactilar de rata consciente por EEG. El patrón global del cambio en el espectro de potencias por EEG presenta similitudes con fármacos potenciadores de la cognición/antidepressivos y ciertos fármacos analgésicos.

### Referencias.

- Ahrens H., Läuter J. (1974). *Mehrdimensionale Varianzanalyse*. Akademie-Verlag, Berlín.
- 15 Dimpfel W., Spüler M., Nickel B. (1986). Radioelectroencephalography (Tele-Stereo-EEG) in the rat as a pharmacological model to differentiate the central action of flupirtine from that of opiates, diazepam and phenobarbital. *Neuropsychobiology* 16: 163-168.
- Dimpfel W., Spüler M., Koch R., Schatton W. (1987). Radioelectroencephalographic comparison of memantine with drugs acting on the dopaminergic transmission in the freely moving rat. *Neuropsychobiology* 18: 212-218.
- Dimpfel W., Spüler M., Borbe H.O. (1988). Monitoring of the effects of antidepressant drugs in the freely moving rat by radioelectroencephalography (Tele-Stereo-EEG). *Neurobiology* 19: 116-120.
- 25 Dimpfel W., Spüler M., Wessel K. (1992). Different neuroleptics show common dose and time dependent effects in quantitative field potential analysis in freely moving rats. *Psychopharmacology* 107: 195-202.
- Dimpfel W., Schober F. (2001). Norepinephrine, EEG theta waves and sedation. *Brain Pharmacology* 1: 89-97.
- Dimpfel W. (2003). Preclinical data base of pharmaco-specific rat EEG fingerprints (Tele-Stereo-EEG). *Eur. J. Med. Res.* 8: 199-207.
- 30 Paxinos G., Watson C. (1982). *The rat brain in stereotactic coordinates*, Academic Press, New York.
- Suzuki M., Suzuki M., Sato K., Dohi S., Sato T., Matsuura A., Hiraide A. (2001). Effect of beta-hydroxybutyrate, a cerebral function improving agent, on cerebral hypoxia, anoxia and ischemia in mice and rats. *Jpn. J. Pharmacol.* 87: 143-50.
- 35 Suzuki M., Suzuki M., Kitamura Y., Mori S., Sato K., Dohi S., Sato T., Matsuura A., Hiraide A. (2002). Beta-hydroxybutyrate, a cerebral function improving agent, protects rat brain against ischemic damage caused by permanent and transient focal cerebral ischemia. *Jpn. J. Pharmacol.* 89: 36-43.

**REIVINDICACIONES**

1. Un material cetogénico seleccionado del grupo que consiste en (R)-3-hidroxiacetato, sus sales, oligómeros de (R)-3-hidroxiacetato y ésteres de (R)-3-hidroxiacetato con glicerol o (R)-1,3-butanodiol para uso en el tratamiento de la depresión y/o la ansiedad, donde el tratamiento es con una dosis de material de 5-5000 mg/kg de peso corporal.
- 5 2. Un material cetogénico para uso según la Reivindicación 1, caracterizado por que la cetosis producida es tal que la concentración total de acetoacetato y (R)-3-hidroxiacetato en la sangre del sujeto se eleva a entre 0,1 y 30 mM.
3. Un material cetogénico para uso según la Reivindicación 1, caracterizado por que la concentración total de acetoacetato y (R)-3-hidroxiacetato en la sangre se eleva a entre 0,5 y 15 mM.
- 10 4. Un material cetogénico para uso según la Reivindicación 1, caracterizado por que la concentración total de acetoacetato y (R)-3-hidroxiacetato en la sangre se eleva a entre 1 y 10 mM.
5. Un material cetogénico para uso según la Reivindicación 1, caracterizado por que la concentración total de acetoacetato y (R)-3-hidroxiacetato en la sangre se eleva a entre 3 y 8 mM.
- 15 6. Un material cetogénico para uso según una cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por que el tratamiento es en el estado de un trastorno esquizoafectivo, un trastorno obsesivo-compulsivo, un trastorno de pánico, un trastorno de ansiedad social, un trastorno de ansiedad generalizada y un trastorno de estrés postraumático.



Fig. 1.

	5/65 min	65-125 min	125-185 min	185-245 min	245-305 min
<b>24 variables</b>					
Bicarbonato Na 20 mM pH de 3,4	0,60	0,26	0,53	0,35	0,70
Bicarbonato Na 20 mM pH de 12,3	0,33	0,21	0,20	0,45	0,62
BHB 30 mg/kg	0,26	0,39	0,70	1,23	1,07
BHB 100 mg/kg	0,63	0,34	0,57	0,28	0,26
BHB 300 mg/kg	1,23	1,24	0,55	0,42	0,63
BHB 600 mg/kg	1,89***	1,16	0,58	0,47	0,54
BHB 1000 mg/kg	2,72***	1,97***	1,28	1,27	1,03
<b>Córtex frontal</b>					
Bicarbonato Na 20 mM pH de 3,4	1,24	0,31	0,24	0,36	0,64
Bicarbonato Na 20 mM pH de 12,3	0,67	0,32	0,23	0,52	1,13
BHB 30 mg/kg	0,59	0,91	1,35	2,49**	2,39**
BHB 100 mg/kg	0,97	0,45	0,23	0,20	0,27
BHB 300 mg/kg	2,26*	1,92*	0,52	0,30	0,60
BHB 600 mg/kg	4,44***	1,67*	0,41	0,36	0,85
BHB 1000 mg/kg	7,52***	3,18**	2,05*	1,20	0,86
<b>Hipocampo</b>					
Bicarbonato Na 20 mM pH de 3,4	0,64	0,19	0,96	0,51	1,08
Bicarbonato Na 20 mM pH de 12,3	0,15	0,52	0,37	0,96	0,75
BHB 30 mg/kg	0,40	0,44	1,17	3,03**	1,86
BHB 100 mg/kg	1,36	0,63	0,65	0,47	0,39
BHB 300 mg/kg	1,89*	1,97*	0,70	0,61	0,85
BHB 600 mg/kg	3,84***	1,94*	0,52	0,45	0,19
BHB 1000 mg/kg	5,00***	2,66**	1,05	0,32	0,54
<b>Cuerpo estriado</b>					
Bicarbonato Na 20 mM pH de 3,4	0,58	0,12	0,36	0,19	0,20
Bicarbonato Na 20 mM pH de 12,3	0,14	0,26	0,33	1,02	1,07
BHB 30 mg/kg	0,09	0,57	0,92	2,36*	2,14*
BHB 100 mg/kg	0,54	0,17	0,15	0,16	0,23
BHB 300 mg/kg	0,99	0,99	0,55	0,33	0,56
BHB 600 mg/kg	2,54**	0,72	0,80	0,87	1,50
BHB 1000 mg/kg	3,80***	1,83*	0,59	0,27	0,62
<b>Formación reticular</b>					
Bicarbonato Na 20 mM pH de 3,4	1,38	0,35	0,73	0,48	0,96
Bicarbonato Na 20 mM pH de 12,3	0,64	0,33	0,12	0,56	0,60
BHB 30 mg/kg	0,26	0,86	1,91*	4,07***	3,10**
BHB 100 mg/kg	1,55	0,54	0,39	0,14	0,31
BHB 300 mg/kg	3,03**	3,14**	0,65	0,24	0,70
BHB 600 mg/kg	4,84***	3,10**	0,62	0,22	0,35
BHB 1000 mg/kg	6,28***	5,12***	2,57**	2,72**	2,26*

Fig.2.

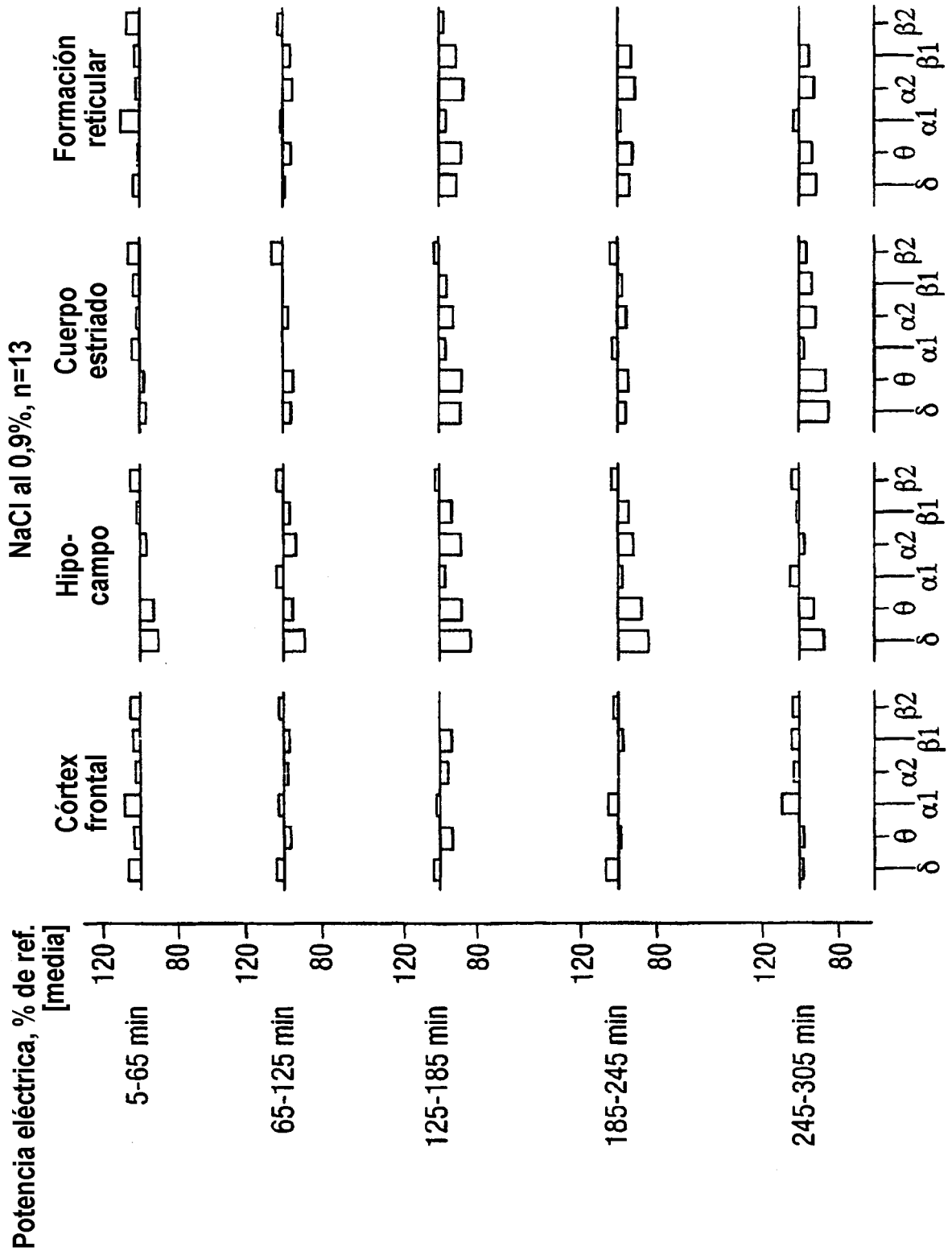


Fig.3.

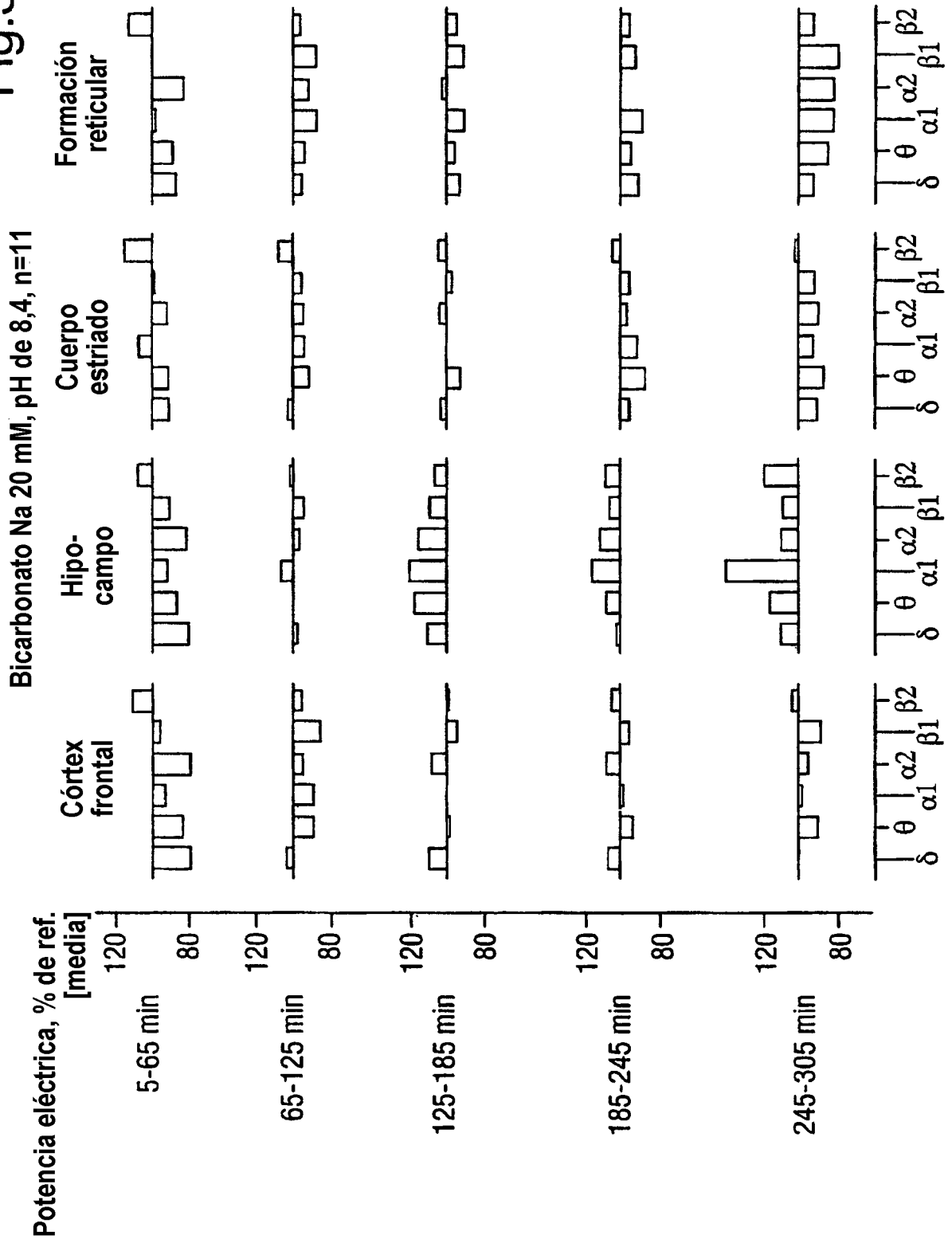


Fig.4.

Bicarbonato Na 20 mM, pH de 12,5, n=12

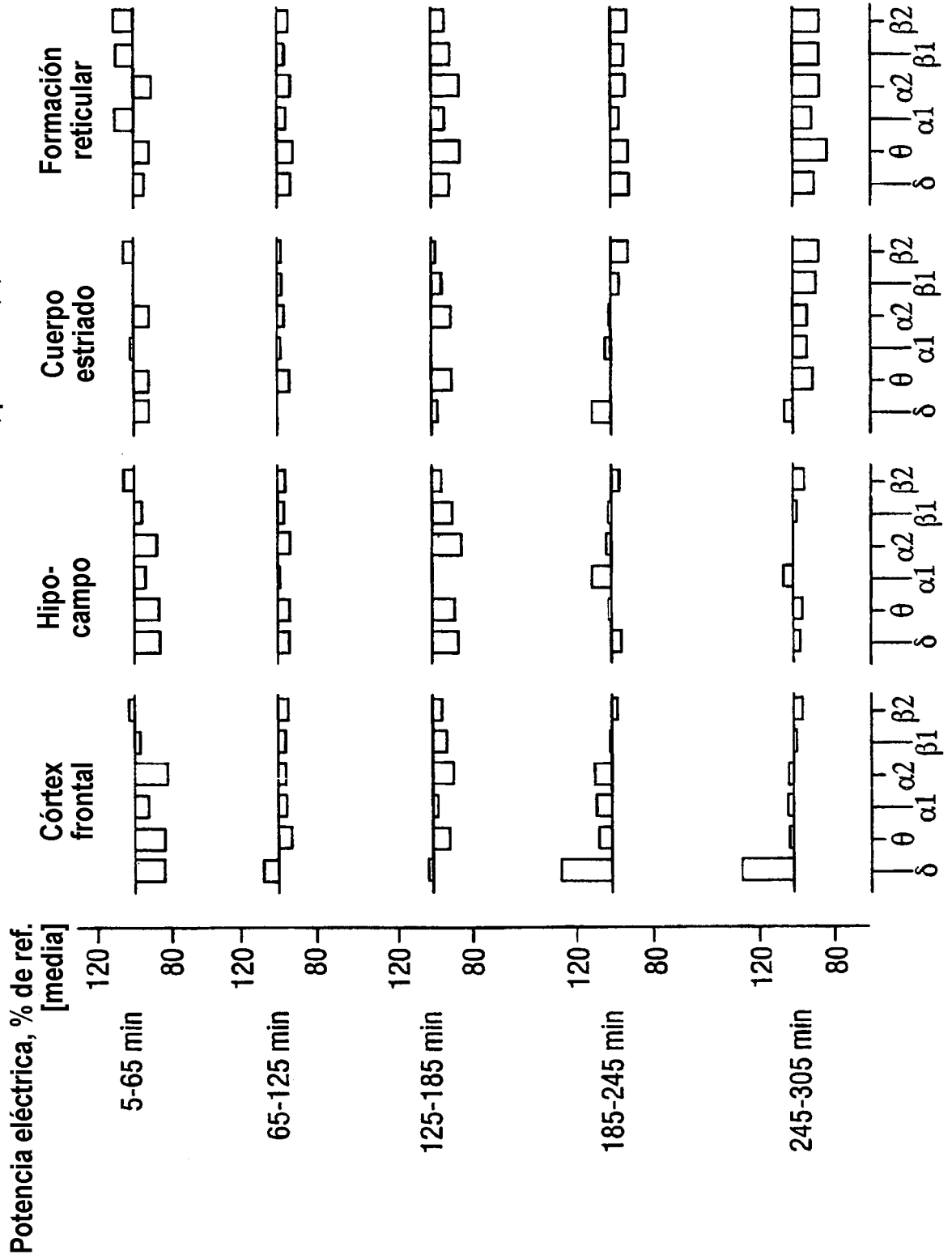


Fig.5.

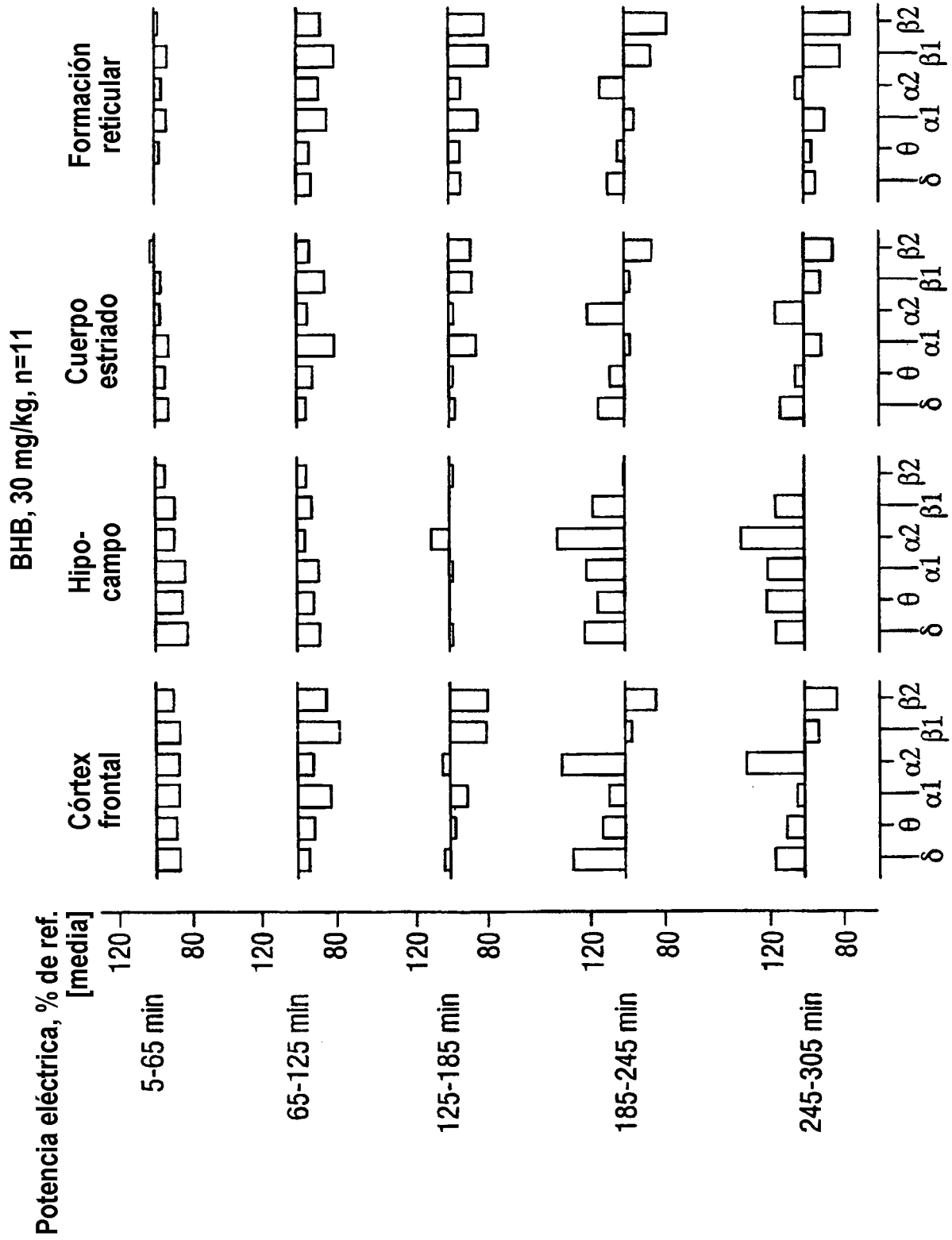


Fig.6.

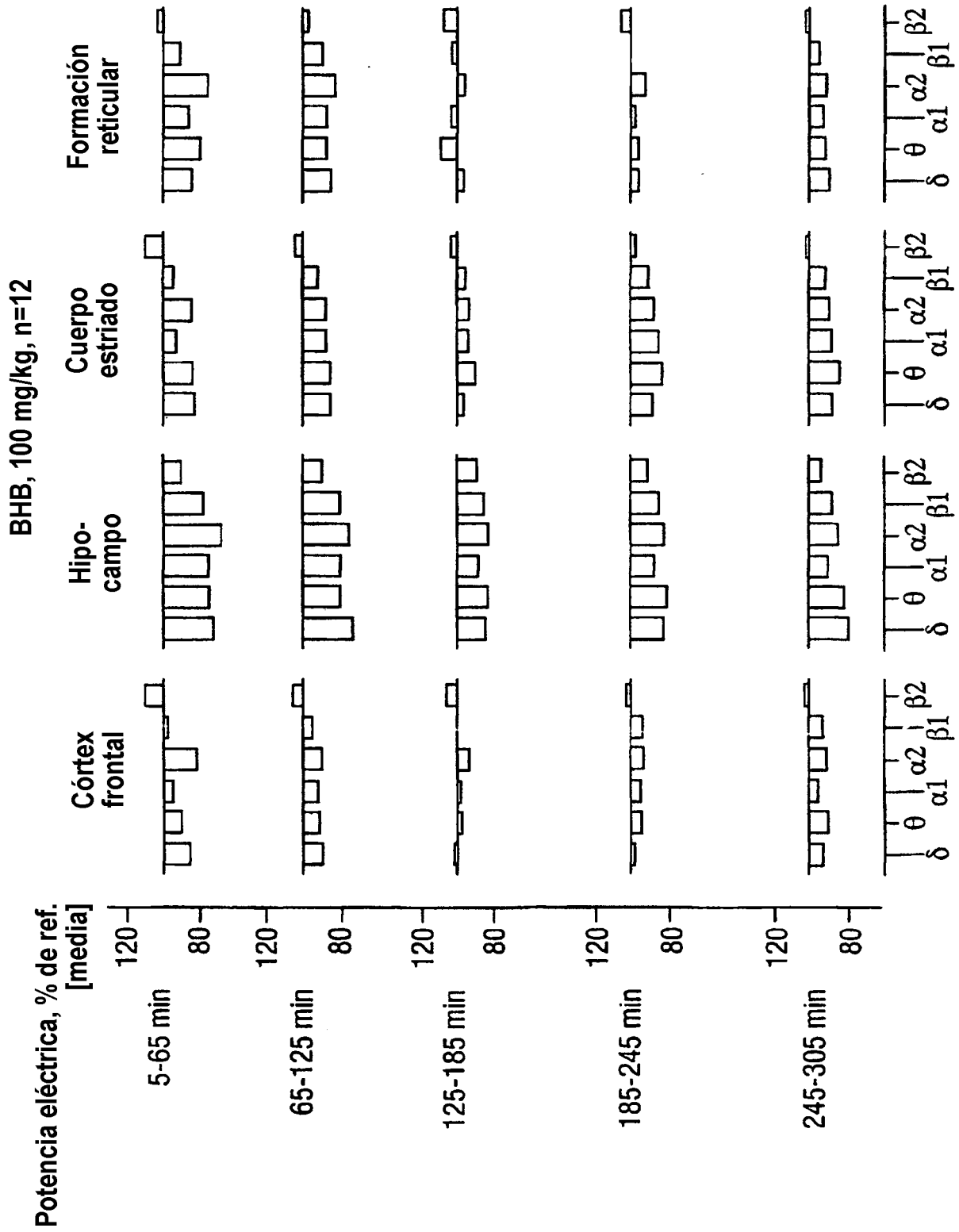


Fig.7.

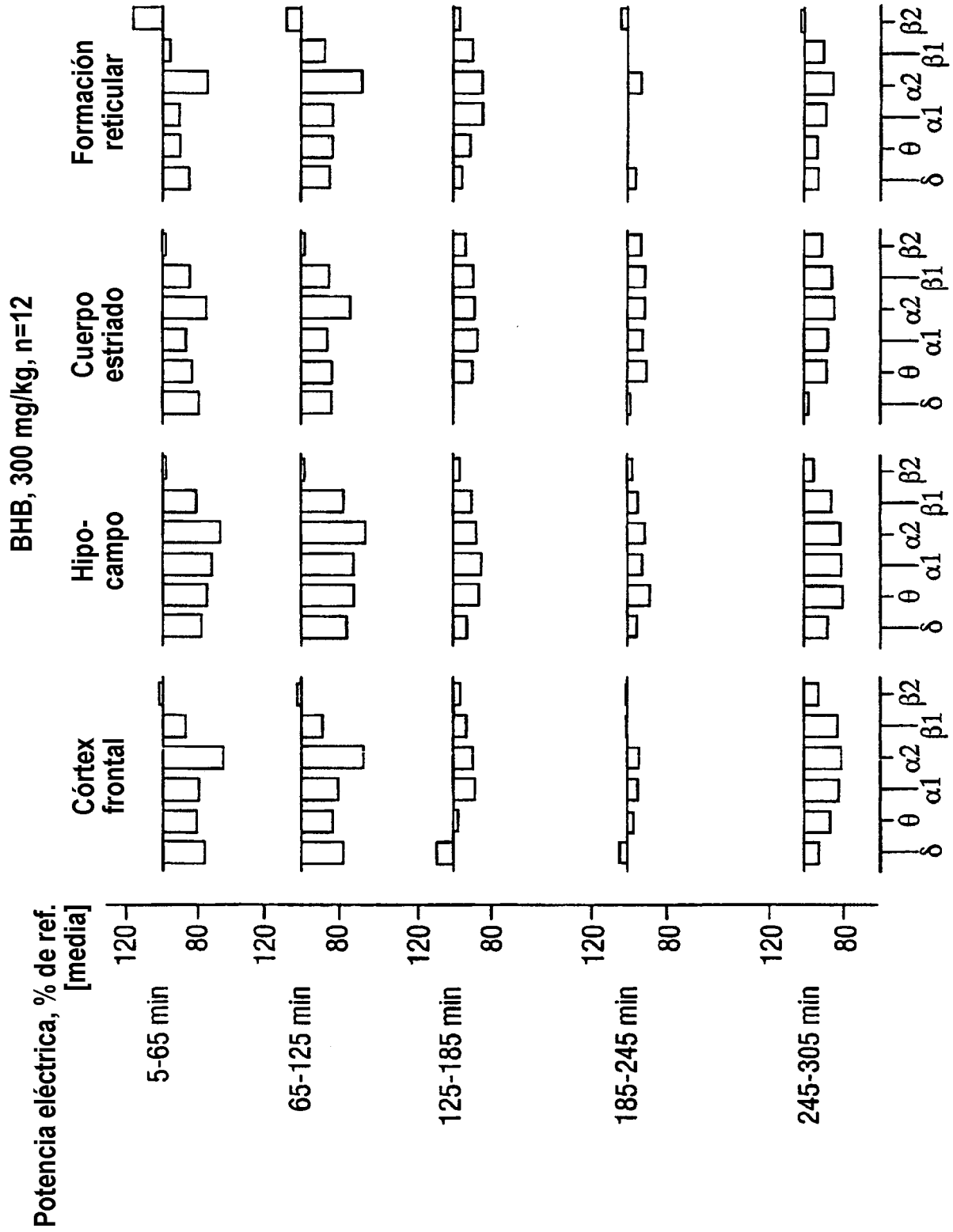


Fig.8.

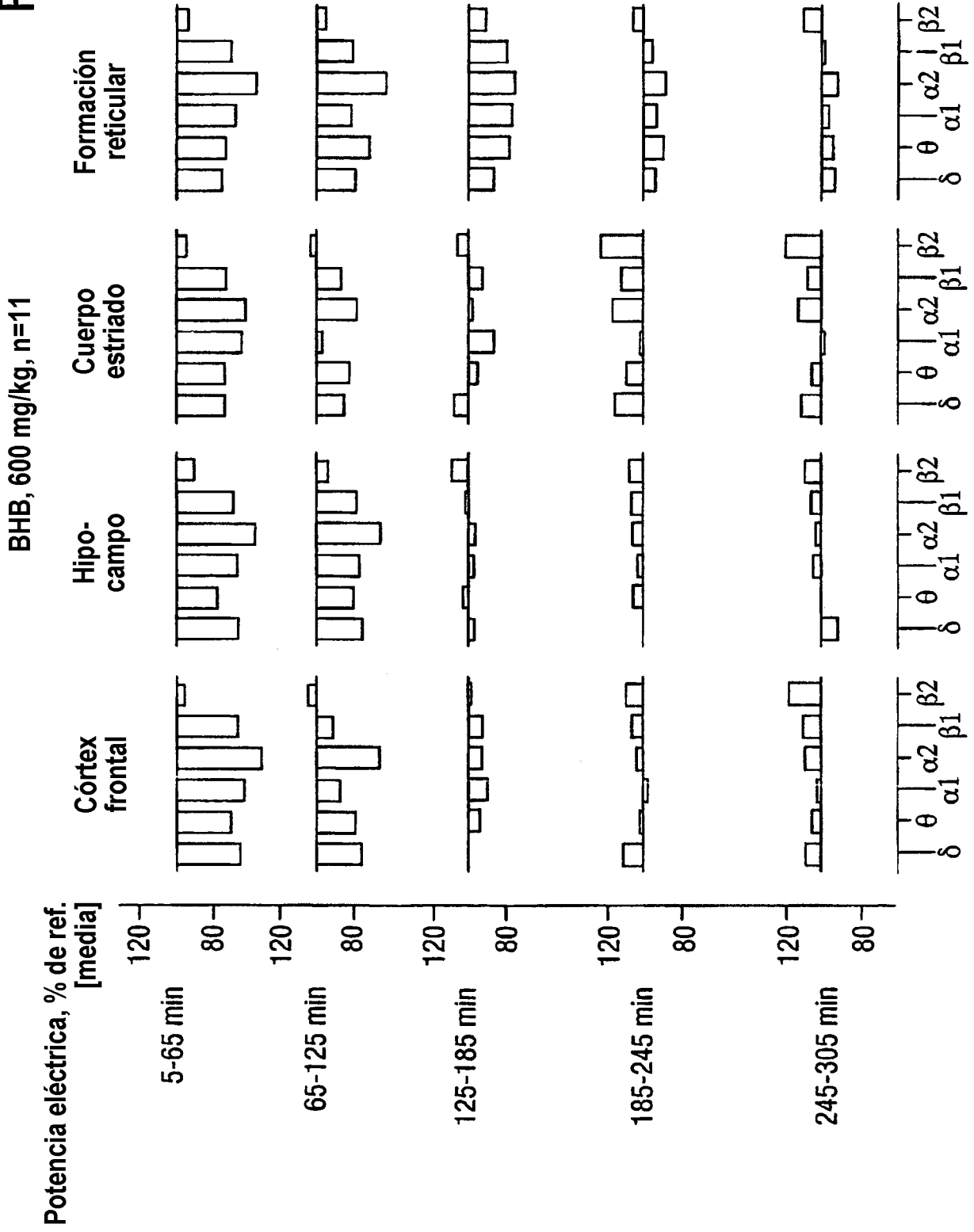




Fig.9.

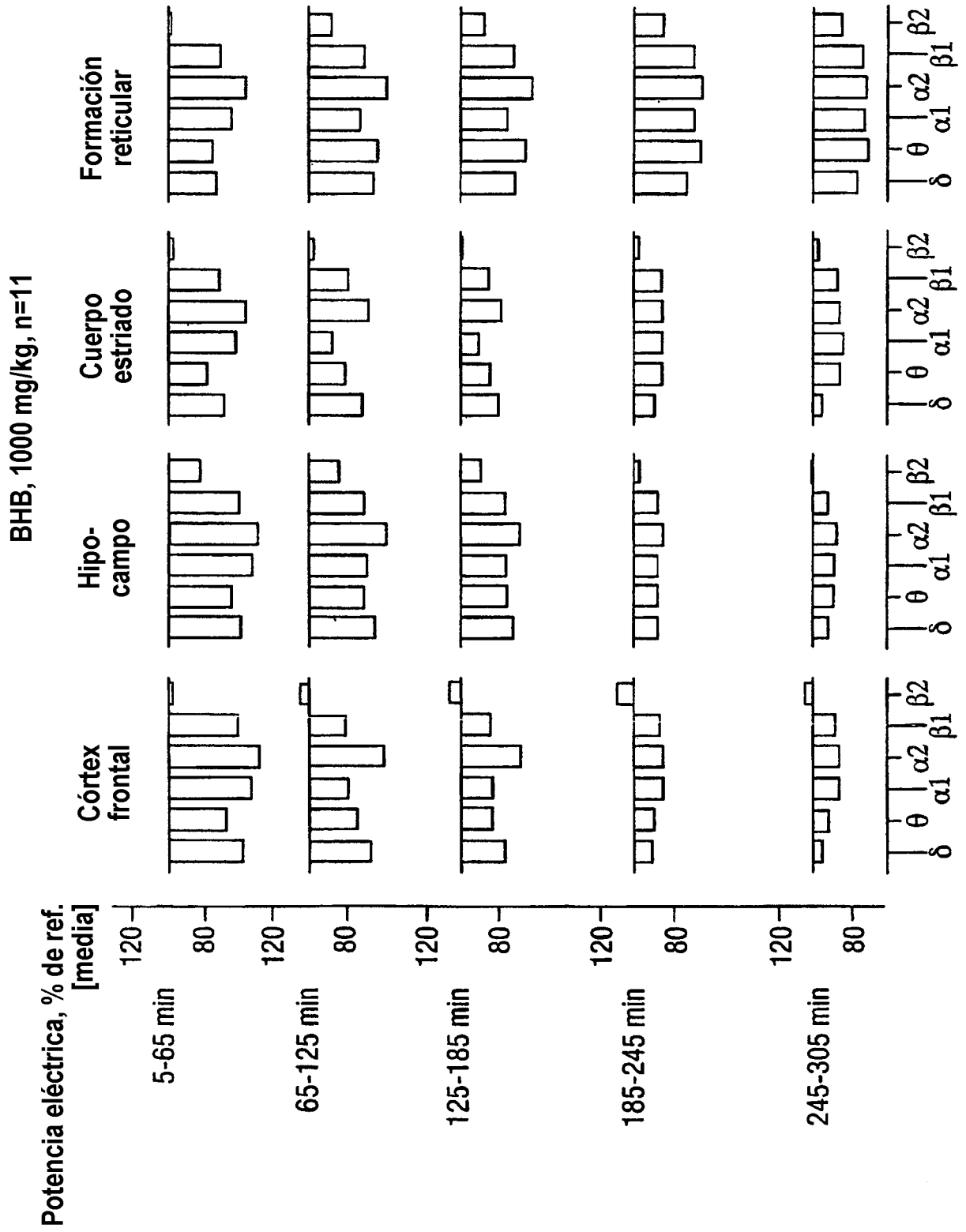
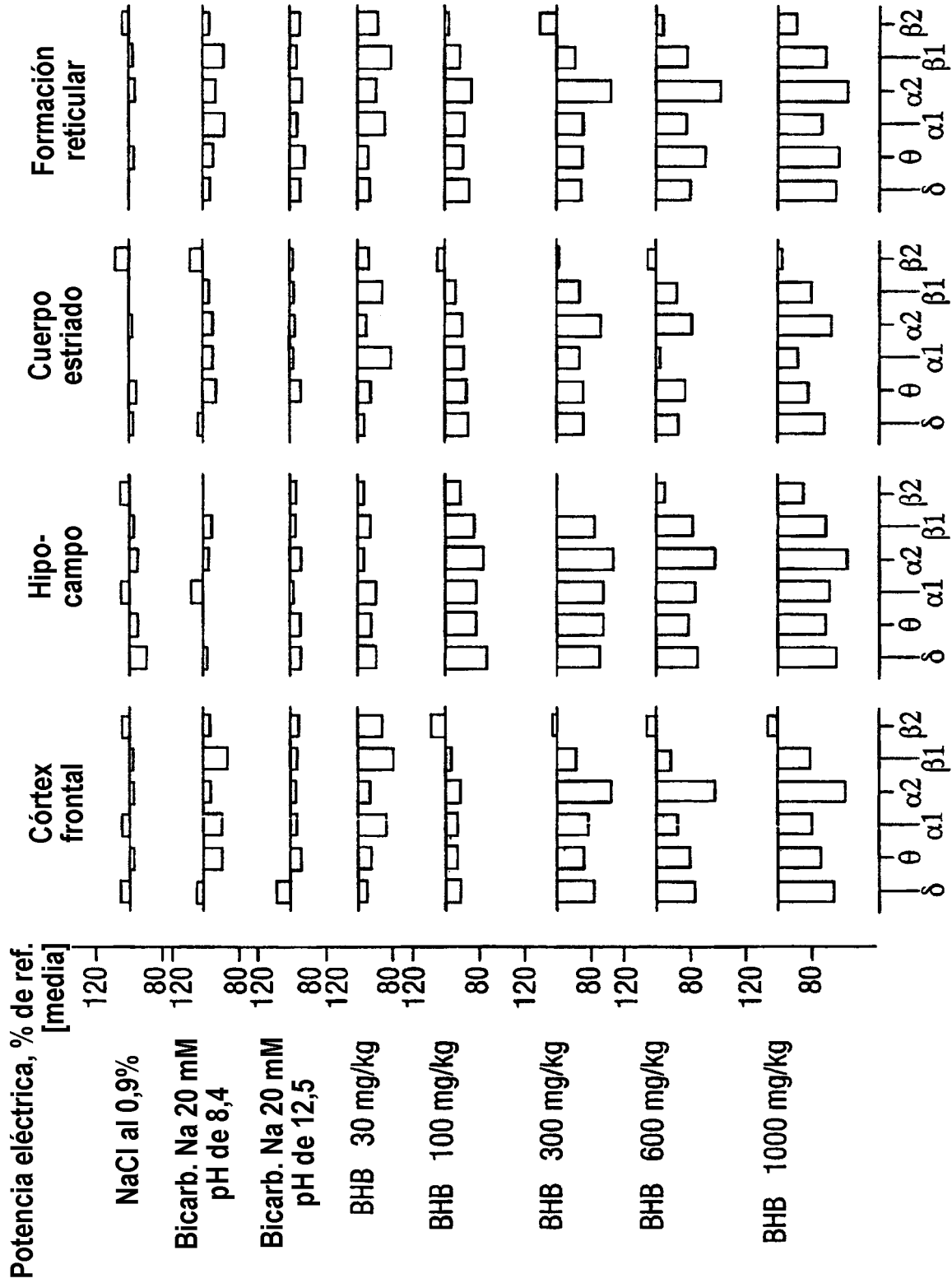




Fig. 11.



65-125 min después de la aplicación i.p.

Fig.12.

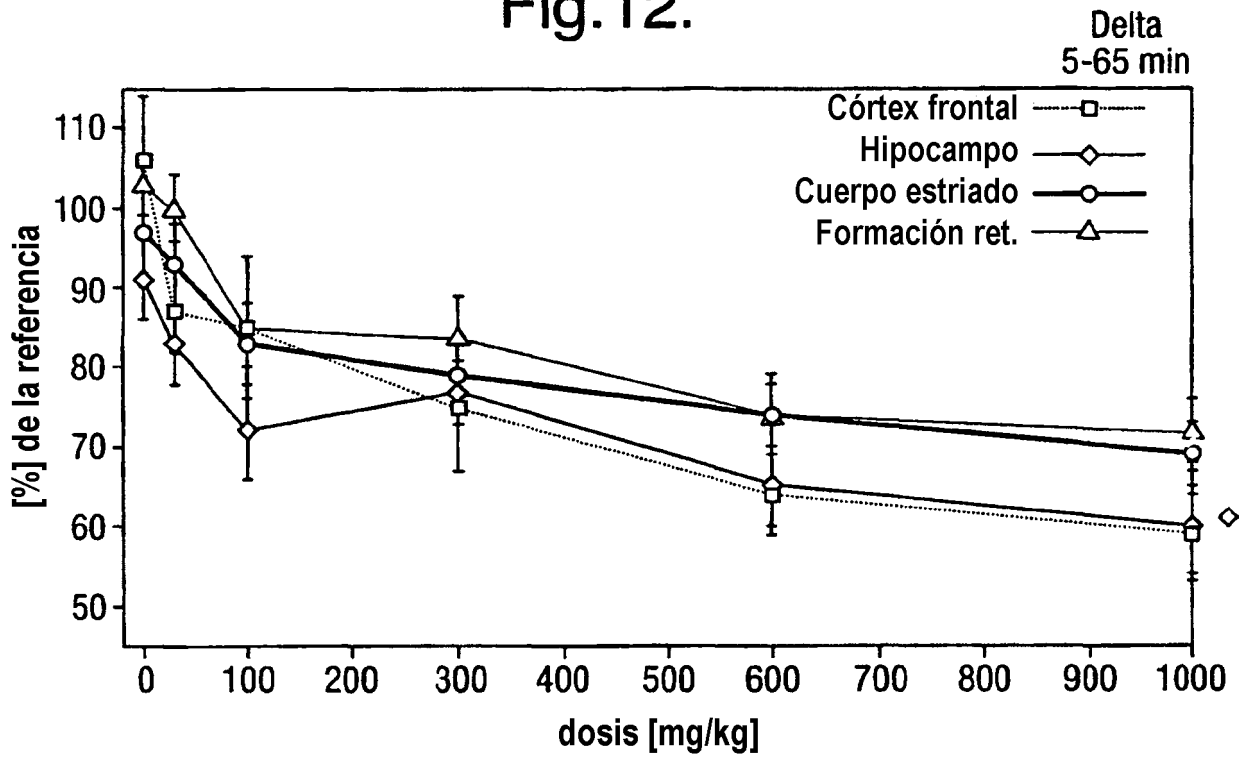


Fig.13.

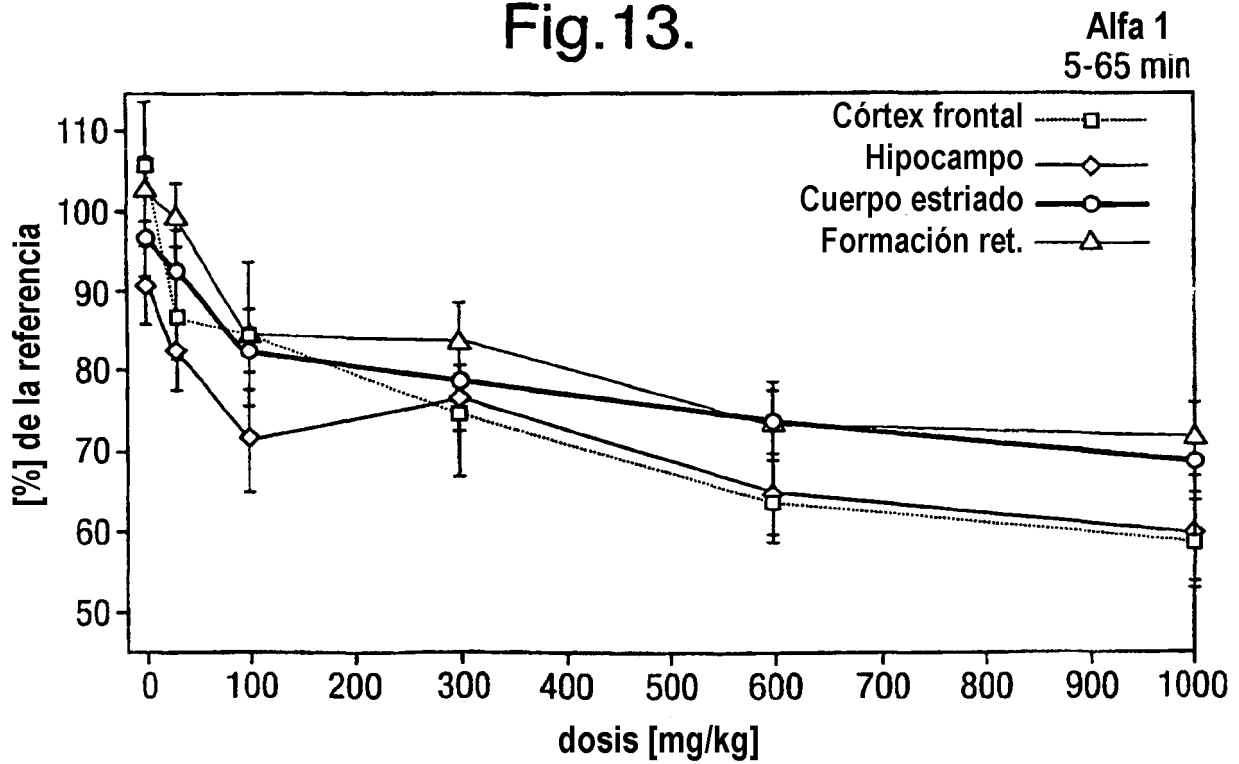


Fig.14.

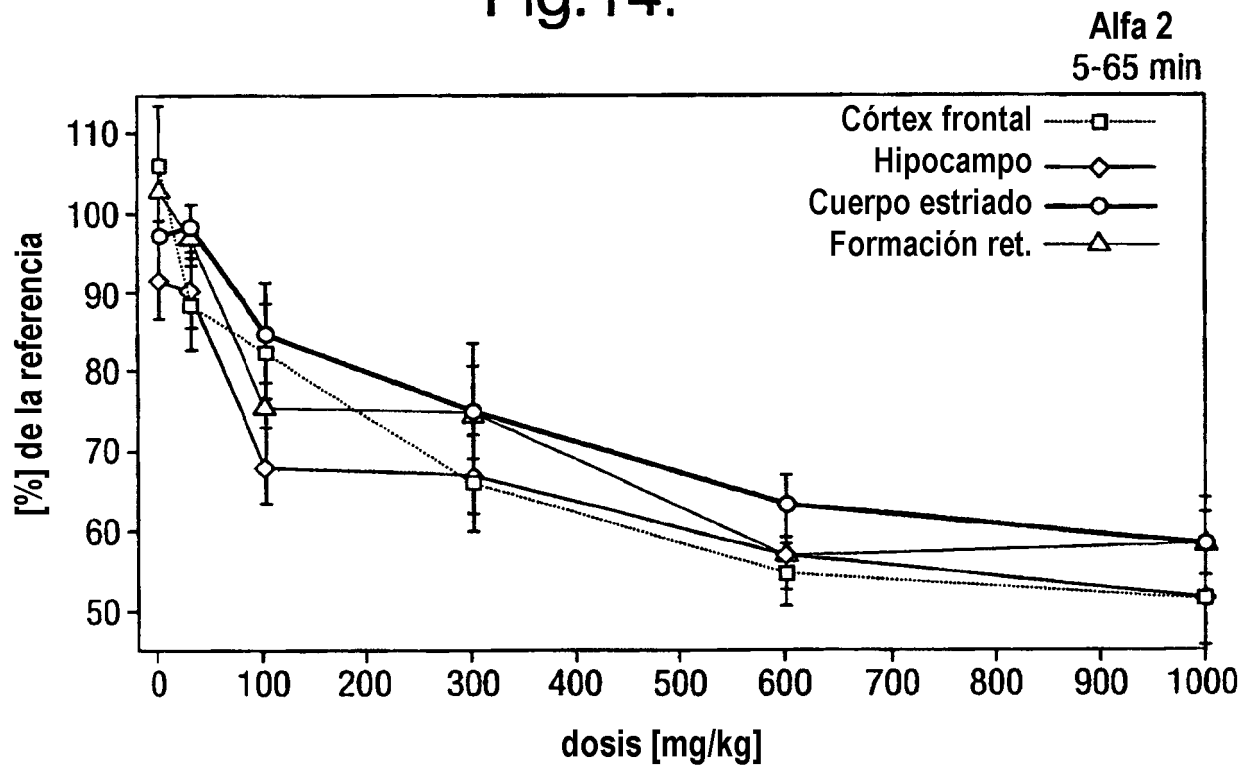


Fig.15.

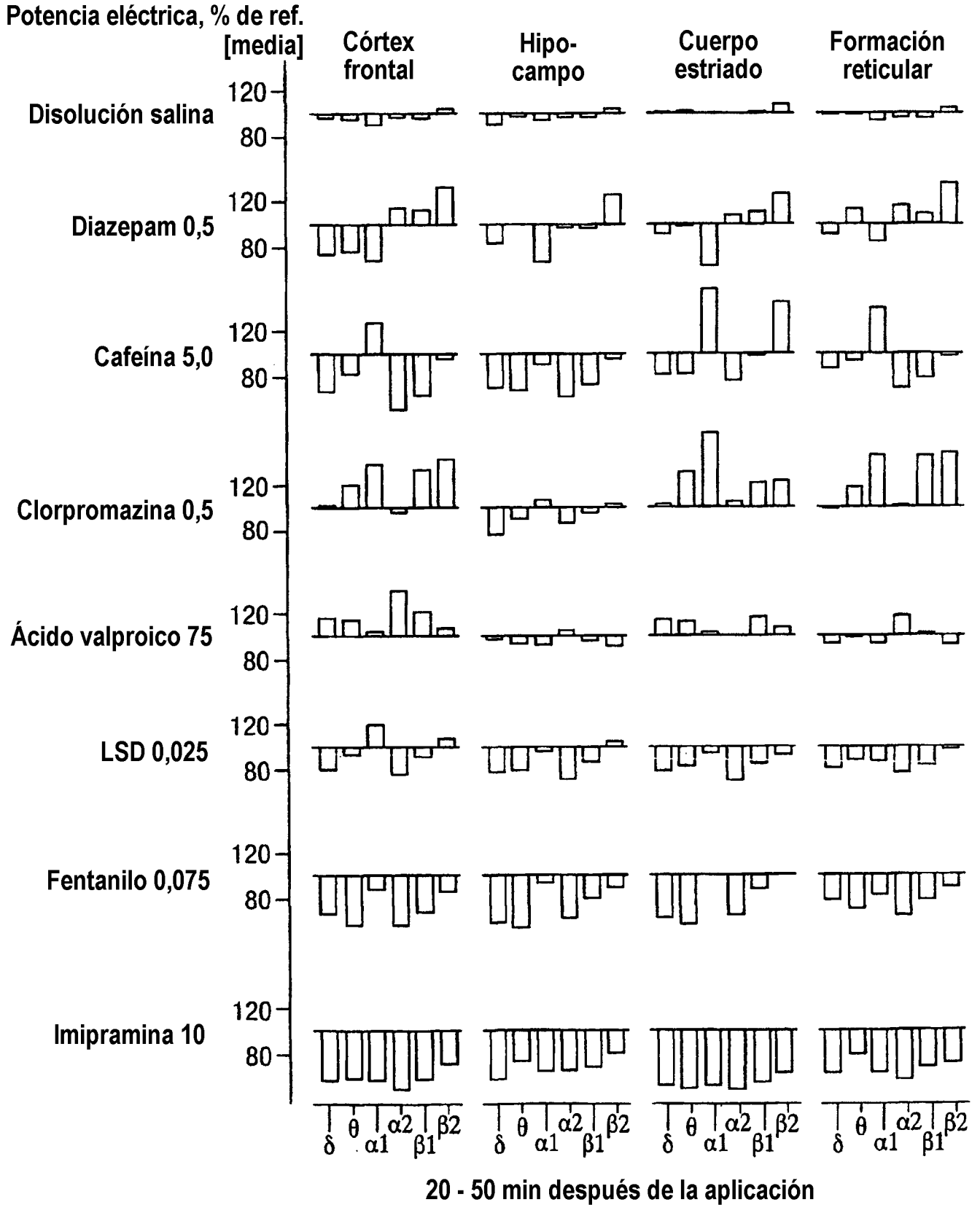


Fig.16.

