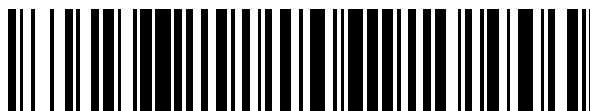


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 412 858**

51 Int. Cl.:

A61K 31/00 (2006.01)
A61K 31/437 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 25/30 (2006.01)
A61P 25/32 (2006.01)
A61P 25/34 (2006.01)
A61P 25/36 (2006.01)
A61K 31/4745 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2006 E 06815512 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.03.2013 EP 1928438**

54 Título: **Procedimiento para tratar adicciones a drogas y conductuales**

30 Prioridad:

26.09.2005 US 720568 P
31.05.2006 US 810038 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.07.2013

73 Titular/es:

AVIGEN, INC. (50.0%)
c/o MediciNova, Inc., 4350 La Jolla Village Drive,
Suite 950
San Diego, CA 92122 , US y
THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF
COLORADO (50.0%)

72 Inventor/es:

JOHNSON, KIRK W. y
WATKINS, LINDA MAY ROTHBLUM

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 412 858 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

Procedimiento para tratar adicciones a drogas y conductuales

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere generalmente al tratamiento de adicciones a drogas y conductuales. En particular, la presente invención pertenece al tratamiento de adicciones a drogas, tales como la dependencia de opiáceos, con ibudilast (también denominado AV411 en este documento) con objeto de suprimir la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens*, que está asociada con la sensación de recompensa que experimentan los sujetos en respuesta a las drogas adictivas y a la conducta. Adicionalmente, puede usarse el ibudilast para el tratamiento de los síndromes de abstinencia tras la interrupción del uso de una droga adictiva o de la conducta. Específicamente se ha demostrado que el ibudilast alivia los síntomas de abstinencia de opiáceos y atenúa la activación de las células gliales cerebrales inducida por los opiáceos, que puede estar relacionada con los fenómenos de tolerancia y abstinencia de los opiáceos.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La adictividad de algunos fármacos y las conductas compulsivas está relacionada con la excitación de las vías de refuerzo/recompensa mediada por la dopamina en el sistema nervioso central (Abbott (2002) Nature 419: 872 - 874; Montague y col. (2004) Nature 431: 760 - 767). Normalmente la dopamina funciona motivando a los mamíferos para que realicen conductas importantes para la supervivencia tales como comer y sexo, pero en los sujetos con adicciones, la dopamina induce una conducta anormal. Los sujetos con adicciones se sienten impulsados a usar una sustancia o a realizar una conducta de forma repetida a pesar de experimentar efectos perjudiciales. Se ha demostrado que prácticamente todas las drogas de abuso y las conductas compulsivas aumentan las concentraciones extracelulares de dopamina en el *nucleus accumbens* de los mamíferos.

20 Las drogas de abuso inducen una dependencia mediada por dopamina caracterizada por un ansia compulsiva por la droga y conductas de búsqueda de la droga. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha clasificado las drogas adictivas en nueve grupos: 1. alcohol, 2. anfetaminas, 3. barbituratos, 4. marihuana, 5. cocaína, 6. alucinógenos, 7. qat, 8. opiáceos, y 9. disolventes orgánicos. La desregulación de las vías de dopamina también está asociada con adicciones conductuales compulsivas, tales como comer, beber, fumar, comprar, jugar, sexo y uso de ordenadores en exceso (Comings y col. (2000) Prog. Brain Res. 126: 325 - 341; Comings y col. (1997) 2: 44 - 56; Blum y col. (2000) J. Psychoactive Drugs 32 supl.: i - iv, 1 - 112; Potenza (2001) Semin. Clin. Neuropsychiatry 6: 217 - 226; Gianoulakis (1998) Alcohol Health Res. World 22: 202 - 210; Bowirrat y col. (2005) Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet. 132: 29 - 37; Di Chiara (2005) Physiol Behav. 86: 9 - 10; Franken y col. (2005) Appetite 45: 198 - 201; Wangetal. (2004) 1, Addict Dis, 23: 39 - 53; Aamodt (1998) Nature Med. 4: 660; y Koeppe y col. (1998) Nature 393: 266 - 268),

35 Además, la dependencia física y psicológica acompañada por un síndrome de abstinencia se asocia a menudo con el uso de drogas adictivas y a conductas compulsivas. La abstinencia se define como la aparición de síntomas físicos y conductuales tras la reducción o el cese del uso de drogas o de una conducta compulsiva. La abstinencia refleja los cambios que se producen en el sistema nervioso central en respuesta al uso continuado de una sustancia o a la repetición de una conducta adictiva que usurpa los mecanismos normales que median en el refuerzo y la recompensa de la conducta para motivar al individuo adicto a continuar consumiendo una droga o a repetir una conducta compulsiva frente a las graves consecuencias sociales, legales, físicas y profesionales. Los síntomas físicos de la abstinencia pueden incluir ansia intensa, irritabilidad, ansiedad, disforia, inquietud, falta de concentración, aturdimiento, insomnio, temblores, aumento del apetito y ganancia de peso, bostezos, sudoración, lagrimeo, rinorrea, pupilas dilatadas, dolor de huesos, de espalda y de músculos, piloerección, sudoraciones y escalofríos, náuseas, vómitos, diarrea, pérdida de peso, fiebre y aumento de la presión arterial, del pulso y de la frecuencia respiratoria.

45 La gestión del síndrome de abstinencia de opioides se ha reconocido desde hace tiempo como una necesidad clínica no satisfecha. El dolor crónico afecta a más de uno de cada tres adultos a nivel mundial. Los compuestos opioides, tales como la morfina, son los terapéuticos de primera línea para el control del dolor crónico. Debido a que el dolor crónico, por definición, persiste durante muchos meses (e incluso durante el resto de la vida del paciente), la morfina y compuestos similares pueden administrarse también crónicamente. Esto es un problema grave porque los opioides inducen dependencia tras una administración repetida, lo que significa que se requiere continuidad en la administración de los opioides a los pacientes para que funcionen normalmente. Cuando se interrumpen los opioides, y también durante la suspensión temporal entre dosis sucesivas de opioides, el paciente sufre abstinencia.

50 Debido a que los opioides ejercen acciones en un amplio conjunto de tejidos del cerebro, médula espinal y del cuerpo, los efectos de los opioides, y las consiguientes patologías de abstinencia, son diversas.

55 Los signos de la abstinencia son generalmente opuestos a los efectos de los opioides. Por ejemplo, la morfina provoca estreñimiento; la abstinencia provoca diarrea. La morfina disminuye la temperatura corporal, la abstinencia la aumenta. La morfina provoca sedación, la abstinencia provoca agitación. Algunos signos adicionales de abstinencia incluyen aumento del dolor, pupilas dilatadas, piel de gallina, bostezos, calambres, dolores musculares, inquietud, ansiedad extrema, insomnio, náuseas y vómitos, sudoración, lagrimeo, taquicardia y aumento de la presión sanguínea.

60 Sin ninguna lógica, aunque la reducción del dolor es la razón por la que se administran los opioides, el dolor vuelve drásticamente durante la abstinencia, de forma que el dolor ya no sólo *no* es controlado por los opioides en el área de queja dolorosa original, sino que más bien todo el cuerpo es ahora extraordinariamente sensible a los estímulos de tacto y de temperatura, malinterpretando los estímulos habitualmente no dolorosos como dolorosos. Un ligero contacto se vuelve doloroso. El calor y el frío se vuelven dolorosos. Este giro en las sensaciones diarias hacia un dolor aterrador (junto con el resto de la sintomatología de abstinencia) destruye diariamente las vidas de muchos millones sólo en Estados Unidos. Crea un gran sufrimiento en receptores crónicos de opioides, en pacientes que necesitan interrumpir los opioides y en la recuperación de farmacodependientes, cuyo deseo de evitar los síntomas de abstinencia

puede impedirles huir del uso ilícito de drogas.

El problema se agrava por el hecho de que actualmente no existe un remedio para la abstinencia, aparte de otra dosis de opioide. Como saben los adictos, otra dosis de la droga no resuelve el problema, sino que enmascara el problema hasta que la droga desaparece de nuevo. Las metodologías actuales para llevar a los pacientes y a los adictos a través de la abstinencia son extremas, incluyendo "parar en seco", sedación y analgesia. La "desintoxicación" es inducida a menudo con naltrexona (un antagonista del receptor de opioides) bajo anestesia general o sedación con una benzodiazepina, en un entorno estrechamente vigilado tal como en cuidados intensivos. La naltrexona induce una abstinencia aguda, con unos síntomas que duran aproximadamente seis días. Sólo está contemplada en pacientes con buena salud. Otros procedimientos empleados actualmente para llevar a los seres humanos a través de la abstinencia incluyen la administración de fármacos antiinflamatorios no esteroideos tales como paracetamol, antieméticos tales como metoclopramida, antidiarreicos tales como loperamida, diazepam para reducir la ansiedad y la agitación, y clonidina para disminuir la ansiedad, la sudoración y los cambios en la frecuencia cardíaca y la presión sanguínea.

En el desarrollo de un tratamiento mejorado para la abstinencia de opioides es importante considerar que los opioides, incluyendo la morfina, no afectan sólo a las neuronas. Aunque las neuronas que responden a los opioides en diversas regiones del cerebro y la médula espinal suprimen el dolor, disminuyen la temperatura corporal, alteran la liberación de hormonas, etc. (los efectos clásicos de los opioides), recientemente se ha descubierto que los opioides también afectan a un tipo de célula no neuronal denominada glia (microglia, astrocitos, oligodendrocitos). La morfina y otros opioides activan la glia. Esta activación aumenta con la administración repetida de opioides, como resulta evidente por la regulación por incremento de los marcadores de activación específicos de la glia. El que dicha activación glial contribuya a la tolerancia a la morfina está apoyado por el hallazgo de que la coadministración de inhibidores gliales junto con morfina altera el desarrollo de tolerancia a la morfina. Por lo tanto, la reducción en la activación glial puede ser útil como una metodología terapéutica para alterar el desarrollo de tolerancia a la morfina. Watkins, L.R. y col. (2005) *Trends in Neuroscience* 28: 661 - 669; Gut, H. y col. (2000) *Pain* 89: 39 - 45; Johnston, I. N. y col. (2004) *J. Neurosci.* 24: 7353 - 65; Raghavendra, V. y col. (2002) *J. Neurosci* 22 (22): 9980 - 89; Raghavendra V. y col. (2004) *Neuropsychopharmacology* 29 (2): 327 - 34; Shavit, Y. y col. (2005) *Pain* 115: 50 - 59; Song, P. y Zhao, Z. Q. (2001) *Neurosci. Res.* 39: 281 - 86.

La activación glial progresiva dirigida por opioides provoca que la glia libere sustancias neuroexcitadoras, incluyendo las citocinas proinflamatorias interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (TNF) e interleucina-6 (IL-6). Estas sustancias neuroexcitadoras contrarrestan la acción de alivio del dolor de los opioides tales como la morfina, y dirigen la sintomatología de abstinencia, según se ha demostrado mediante experimentos que implican la coadministración de sustancias pro o antiinflamatorias junto con morfina. Por ejemplo, la inyección de IL-1 en el líquido cefalorraquídeo de ratones a una dosis sin efectos sobre la conducta por sí misma bloquea el efecto analgésico de la morfina sistémica. De forma análoga, la administración medular de morfina y de un antagonista del receptor de la IL-1 (que evita que la IL-1 ejerza sus efectos), o de morfina y de la citocina antiinflamatoria IL-10 (que regula por disminución la producción, la liberación y la eficacia de las citocinas proinflamatorias), aumenta la magnitud y la duración del analgesia de la morfina. De hecho, si la analgesia de la morfina se estabiliza y después se deja disipar, puede reinstaurarse rápidamente una analgesia potente mediante la inyección de un antagonista del receptor de la IL-1, lo que sugiere que la disipación de la analgesia está causada por la actividad de aumento del dolor de las citocinas más que por la disipación de los efectos analgésicos de la morfina.

La actividad de otros opioides también puede ser contrarrestada por la activación de la glia. Algunos estudios demuestran que la glia y las citocinas proinflamatorias comprometen los efectos analgésicos de la metadona, al menos en parte, a través de unos receptores opioides que no son los clásicos (Watkins, L. R. y col. (2005) *Trends Neurosci.* 28: 661 - 669). Estos resultados sugieren que la glia y las citocinas proinflamatorias estarían implicadas en la abstinencia de la metadona, y probablemente asimismo en la abstinencia de otros opioides. Estos datos también expanden las implicaciones clínicas de la activación glial, dado que la tolerancia cruzada entre opioides puede explicarse por la activación del sistema facilitador del dolor glial, que socava todos los intentos de tratar el dolor crónico con opioides.

En resumen, los opioides excitan la glia, que a su vez libera sustancias neuroexcitadoras (tales como citocinas proinflamatorias) que se oponen a los efectos de los opioides y crean síntomas de abstinencia tras el cese del tratamiento con opioides. Los compuestos que suprimen dicha activación glial serían nuevos terapéuticos beneficiosos para el tratamiento de la abstinencia de opioides.

El derecho anterior del documento WO-A-2007047978 desvela el uso de un agente PDE, que incluye ibudilast, para el tratamiento de enfermedades y dolencias del sistema nervioso central y periférico mediante la estimulación o el aumento de la neurogénesis. En una forma de realización, el agente PDE se usa para tratar pacientes que padecen de abuso de sustancias.

Permanece la necesidad de compuestos, composiciones y tratamientos mejorados para las adicciones de abuso. En particular, se requieren fármacos que atenúen o anulen la "recompensa" mediada por dopamina asociada al ansia de los adictos, y que alivien los síntomas de los síndromes de abstinencia tras la interrupción del uso de drogas o de una conducta compulsiva.

RESUMEN DE LA INVENCION

En un aspecto, la invención proporciona ibudilast para su uso en el tratamiento de una drogadicción en un sujeto mediante la supresión de la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* de dicho sujeto, disminuyendo o eliminando así el ansia asociada a la adicción a una o más drogas en un sujeto.

La adicción a drogas es, por ejemplo, una adicción a un opiáceo, cocaína, anfetamina, metanfetaminas, cannabinoide, alcohol o nicotina. También se desvela una adicción conductual, por ejemplo, una adicción a comer, beber, fumar, comprar, jugar, sexo o al uso del ordenador.

- 5 En ciertas formas de realización, el sujeto es un ser humano. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra por vía sistémica, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, oral, intranasal, sublingual u otras vías sistémicas. En otras formas de realización, el ibudilast administra por vía central, por ejemplo, por vía intratecal. En ciertas formas de realización, se administran múltiples dosis terapéuticamente eficaces de ibudilast a un sujeto. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra según un régimen de dosificación diario. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra dos veces al día. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra intermitentemente.
- 10 En ciertas formas de realización, el ibudilast disminuye o elimina el ansia asociada a la adicción a una droga en un sujeto.
- En ciertas formas de realización, el ibudilast disminuye o elimina la tolerancia a una droga en un sujeto.
- En ciertas formas de realización, el ibudilast disminuye o elimina la trascendencia incentiva de las pautas asociadas a una adicción a una droga o conductual en un sujeto.
- 15 En ciertas formas de realización, el ibudilast disminuye o elimina los síntomas del síndrome de abstinencia en un sujeto.
- En ciertas formas de realización, el ibudilast disminuye o elimina la pérdida de peso en un sujeto.
- 20 Se desvela que el ibudilast disminuye o elimina la activación de las células gliales en un sujeto. En ciertos aspectos, la activación de la microglía se disminuye o se elimina en el sujeto. En ciertos aspectos, la activación de los astrocitos se disminuye o se elimina en el sujeto. En ciertos aspectos, el aumento en la CD11b inducido por drogas se reduce en el cerebro de un sujeto, por ejemplo, en las regiones periacueductal gris o del núcleo trigeminal del cerebro del sujeto.
- En ciertos aspectos, el ibudilast disminuye o elimina el aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias inducida por drogas en un sujeto. En ciertos aspectos, la citocinas proinflamatoria es interleucina-1. En ciertos aspectos, la expresión de la citocinas pro inflamatorias es reducida en el cerebro del sujeto. En ciertos aspectos, la expresión de la interleucina-1 es reducida en la región periacueductal gris dorsal del cerebro del sujeto.
- 25 En ciertas formas de realización, el sujeto es un ser humano. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra por vía sistémica, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, oral, intranasal, sublingual u otras vías sistémicas. En otras formas de realización, el ibudilast se administra por vía central, por ejemplo, por vía intratecal. En ciertas formas de realización, se administran múltiples dosis terapéuticamente eficaces de ibudilast al sujeto. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra según un régimen de dosificación diario. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra dos veces al día. En ciertas formas de realización, el ibudilast se administra intermitentemente.
- 30 En ciertas formas de realización, la adicción a una droga es, por ejemplo, una adicción a opiáceos, cocaína, anfetamina, metanfetamina, cannabinoides, alcohol o nicotina. También se desvela una adicción conductual, por ejemplo, adicción a comer, beber, fumar, comprar, jugar, sexo o al uso del ordenador.
- 35 En ciertas formas de realización, el ibudilast se usa en una terapia de combinación con uno o más de otros agentes para el tratamiento de una adicción. En algunas formas de realización, se eligen uno o más agentes del grupo que consiste en analgésicos, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), antieméticos, antidiarreicos, antagonistas alfa-2, benzodiazepinas, anticonvulsivantes, antidepresivos y terapéuticos para el insomnio. En varias formas de realización, se eligen uno o más agentes del grupo que consiste en buprenorfina, naloxona, metadona, acetato de levometadilo, L-alfa acetilmetadol (LAAM), hidroxicina, difenoxilato, atropina, clordiazepóxido, carbamazepina, mianserina, benzodiazepina, fenociacina, disulfiram, acamprosato, topiramato, ondansetron, sertralina, bupropión, amantadina, amilorida, isradipino, tiagabina, baclofen, propranolol, desipramina, carbamazepina, valproato, lamotrigina, doxepina, fluoxetina, imipramina, moclobemida, nortriptilina, paroxetina, sertralina, triptófano, venlafaxina, trazodona, quetiapina, zolpidem, zopiclona, zaleplon, gabapentina, naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina y diacepam.
- 40 En otro aspecto, la invención se refiere al tratamiento de un síndrome de abstinencia de opioides en un sujeto mamífero mediante la administración de una o más dosis de ibudilast. En una forma de realización el sujeto es un ser humano.
- 45 En otra forma de realización, el opioide se elige del grupo que consiste en morfina, metadona y fentanilo. En una forma de realización, el opioide es morfina. En algunas formas de realización, el síndrome de abstinencia de opioides es causado por la reducción o el cese de la administración de un opioide en un sujeto. En otra forma de realización, el síndrome de abstinencia de opioides es causado por la administración de un antagonista de opioides, tal como naloxona o naltrexona.
- 50 En una forma de realización, el ibudilast se administra por vía sistémica, por ejemplo, por vía intravenosa, subcutánea, oral, intranasal, sublingual u otras vías sistémicas. En otras formas de realización, el ibudilast se administra por vía central, por ejemplo, por vía intratecal.
- 55 En otras formas de realización, el ibudilast se usa en una terapia de combinación con uno o más de otros agentes para el tratamiento de la abstinencia de opioides. En algunas formas de realización, se eligen uno o más agentes del grupo que consiste en analgésicos, AINEs, antieméticos, antidiarreicos, antagonistas alfa-2 y benzodiazepinas. En varias formas de realización, se eligen uno o más agentes del grupo que consiste en naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina y diacepam.
- 60

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 presenta la farmacocinética y la distribución tisular del ibudilast en ratas.

Las Figuras 2A, 2B, 2C y 2B son evoluciones temporales (en minutos) de los síntomas de abstinencia (medidas según una puntuación de abstinencia total) para varios protocolos de tratamiento y control en un modelo de rata de síndrome de abstinencia de morfina.

La Figura 3 muestra los niveles de dopamina (DA) en el *nucleus accumbens* (N Ac) de ratas tratadas con morfina en presencia y en ausencia de ibudilast (AV411).

La Figura 4 compara la conducta de abstinencia durante la microdiálisis de ratas que se trataron con morfina en presencia y en ausencia de ibudilast (AV411).

La Figura 5 compara la conducta de abstinencia inducida por naloxona en ratas tratadas con morfina e ibudilast a una dosis baja (2,5 mg/kg) de ibudilast y a una dosis alta (7,5 mg/kg) o con vehículo (PEG).

Las Figuras 6A - 6C muestran los análisis inmunohistoquímicos de muestras cerebrales recogidas de ratas. La Figura 6A muestra una muestra celular procedente de un animal tratado con vehículo y morfina. La Figura 6B muestra una muestra cerebral procedente de un animal no tratado.

La Figura 6C muestra una muestra cerebral procedente de un animal tratado con ibudilast y morfina. La morfina causó una activación microglial significativa en la región periacueductal gris, según se indica por la tinción de la CD11b (Figura 6A). El tratamiento con ibudilast redujo notablemente el aumento en el marcador de la CD11b causado por la administración crónica de morfina (Figura 6C).

La Figura 7 muestra un análisis por densitometría del marcador de la activación microglial CD11b procedente de muestras cerebrales. El ibudilast causó una reducción significativa en el marcador de la activación microglial CD11b en 2 regiones cerebrales, el gris periacueductal y el homólogo cerebral del asta espinal dorsal, el núcleo trigeminal.

La Figura 8 muestra una comparación de la expresión de la IL-1 en tejido cerebral recogido a partir de animales tratados con ibudilast, con ibudilast y morfina, y con morfina y vehículo (PEG). La morfina aumentó el ARNm de la IL-1 en la región periacueductal gris dorsal pero no en la ventral del cerebro. El ibudilast bloqueó el aumento inducido por la morfina en el ARNm de la IL-1 en la región periacueductal gris dorsal.

La Figura 9 muestra la pérdida de peso atenuada por ibudilast en animales que experimentan una abstinencia de opioides espontánea.

La Figura 10 muestra los niveles de dopamina del *nucleus accumbens* en animales dependientes de morfina tras la administración de morfina (en el momento 0) y durante la abstinencia de opioides precipitada por naloxona (se administraron por vía subcutánea 10 mg/kg de naloxona durante 60 minutos) en animales tratados con ibudilast (7,5 mg/kg) o con vehículo (PEG).

La Figura 11 muestra los niveles de dopamina en el *nucleus accumbens* en animales dependientes de morfina tras la administración de morfina (en el momento 0) en animales tratados con ibudilast (7,5 mg/kg), con morfina, o con una combinación de ibudilast y morfina.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique de otro modo, procedimientos convencionales de química, bioquímica y farmacología, en la pericia de la técnica. Dichas técnicas se explican completamente en la bibliografía. Véase, por ejemplo; A. L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., adicción actual); Morrison y Boyd. *Organic Chemistry* (Allyn y Bacon, Inc., adicción actual); J. March, *Advanced Organic Chemistry* (McGraw Hill, adicción actual); *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, A. Gennaro, Eds. 20^a Ed.; *Goodman & Gilman The Pharmacological Basis of Therapeutics*, J. Griffith Hardman, L. L. Limbird, A. Gilman, 10^a Ed.

I. DEFINICIONES

En la descripción y en la reivindicación de la presente invención se usará la siguiente terminología, según las definiciones descritas a continuación.

Debe mencionarse que, según se usa en esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones pretendidas, las formas singulares "un", "uno" y "el/la" incluyen los referentes plurales salvo que el contexto dicte claramente lo contrario. Por lo tanto, por ejemplo, la referencia a "un fármaco" incluye un fármaco individual, así como dos o más fármacos iguales o diferentes, la referencia a "un excipiente opcional" se refiere al único excipiente opcional, así como a dos o más excipientes opcionales iguales o diferentes.

"Excipiente o portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a un excipiente que puede incluirse opcionalmente en las composiciones de la invención y que no provoca efectos toxicológicos adversos significativos en el paciente.

"Sal farmacéuticamente aceptable" incluye sales de aminoácidos, sales preparadas con ácidos inorgánicos, tales como sales de cloruro, sulfato, fosfato, difosfato, bromhidrato y nitrato, o sales preparadas con un ácido orgánico, tal como sales de malato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, etilsuccinato, citrato, acetato, lactato, metansulfonato, benzoato, ascorbato, para-toluensulfonato, palmoato, salicilato y estearato, así como estolato, gluceptato y lactobionato. De forma análoga, las sales que contienen cationes farmacéuticamente aceptables incluyen sodio, potasio, calcio, aluminio, litio, y amonio (incluyendo amonio sustituido).

5 "Molécula activa" o "agente activo", según se describe en este documento, incluyen cualquier agente, fármaco, compuesto, composición de sustancia o mezcla que proporcione algún efecto farmacológico, a menudo beneficioso, que pueda ser demostrado *in vivo* o *in vitro*. Esto incluye alimentos, complementos alimenticios, nutrientes, nutracéuticos, fármacos, vacunas, anticuerpos, vitaminas y otros agentes beneficiosos. Según se usa en la presente memoria, los términos incluyen adicionalmente cualquier sustancia fisiológica o farmacológicamente activa que produzca un efecto localizado o sistémico en un paciente.

"Sustancialmente" o "esencialmente" significan prácticamente totalmente o completamente, por ejemplo, el 95% o más de alguna cantidad dada.

10 "Opcional" u "opcionalmente" significan que la circunstancia subsiguientemente descrita puede producirse o no, de forma que la descripción incluye casos en los que la circunstancia se produce y casos en los que no.

El término "sistema nervioso central" o "SNC" incluye todas las células y tejidos del cerebro y la médula espinal de un vertebrado, preferiblemente un mamífero. Algunos términos incluyen células neuronales, células gliales (astrocitos, microglia, oligodendrocitos), líquido cefalorraquídeo (LCR), espacios intersticiales y similares.

15 Los términos "sujeto", "individuo" o "paciente" se usan en este documento de forma intercambiable y se refieren a un vertebrado, preferiblemente un mamífero. Algunos mamíferos incluyen murinos, roedores, simios, seres humanos, animales de granja, animales de deporte y mascotas.

El término "aproximadamente", particularmente en referencia a una cantidad dada, se entiende que engloba desviaciones de más o menos un cinco por ciento.

20 El término "adicción" se define en este documento como el uso compulsivo de una droga o la realización de una conducta repetidamente que aumentan las concentraciones extracelulares de dopamina en el *nucleus accumbens*. Una adicción puede ser a una droga, incluyendo psicoestimulantes, analgésicos narcóticos, alcoholes y alcaloides adictivos tales como nicotina, cannabinoides o combinaciones de los mismos. Algunos ejemplos de psicoestimulantes incluyen anfetamina, dextroanfetamina, metanfetamina, fenmetracina, dietilpropion, metilfenidato, cocaína, fenciclidina, metilendioximetanfetamina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Algunos ejemplos de analgésicos narcóticos incluyen alfentanilo, alfaprodina, anileridina, becitramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanilo, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfano, levorfanol, metazocina, metadona, metopon, morfina, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverulento, opio granulado, opio en bruto, tintura de opio, oxycodona, oximorfona, petidina, fenazocina, piminodina, racemeterfano, racemorfanol, tebaína y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Algunas drogas adictivas incluyen también depresores del sistema nervioso central, tales como barbituratos, clordiazepóxido y alcoholes, tales como etanol, metanol y alcohol isopropílico. El término adicción también incluye adicciones conductuales, por ejemplo, comer, beber, fumar, comprar, jugar, sexo y el uso de ordenadores de forma compulsiva.

35 Un sujeto que padece una adicción experimenta una conducta relacionada con la adicción, ansia por el uso de una sustancia en el caso de una adicción farmacológica o una necesidad abrumadora de repetir una conducta en el caso de una adicción conductual, la incapacidad de suspender el uso o la conducta compulsiva a pesar de sus consecuencias indeseadas (por ejemplo, impactos negativos en la salud, en las relaciones personales y en las finanzas, desempleo o encarcelamiento), efectos de recompensa/incentivos asociados con la liberación de dopamina, trascendencia de las pautas asociadas a drogas o conductuales, dependencia, tolerancia o cualquier combinación de los mismos.

40 La conducta relacionada con la adicción en referencia a una drogadicción incluye la conducta resultante del uso compulsivo de una droga caracterizada por la dependencia de la sustancia. La sintomatología de la conducta es (i) abrumadora implicación en el uso de la droga, (ii) la seguridad de su suministro, y (iii) una elevada probabilidad de recaída tras la abstinencia.

45 Los términos "cantidad eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" de una composición o de un agente, según se proporcionan en este documento, se refieren a una cantidad no tóxica pero suficiente de la composición para proporcionar la respuesta deseada, tal como la supresión de la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* de un sujeto o la supresión de la activación glial en un sujeto, y opcionalmente, un correspondiente efecto terapéutico. La cantidad exacta requerida variará de un sujeto a otro, dependiendo de la especie, de la edad, del estado general del sujeto, de la gravedad de la dolencia que se va a tratar, de la droga o drogas en particular y del modo de administración. Una cantidad "eficaz" apropiada en cualquier caso individual puede ser determinada por el experto habitual en la técnica mediante el uso de experimentación rutinaria.

50 Por "dosis o cantidad terapéuticamente eficaz" de ibudilast se entiende una cantidad que, cuando se administra ibudilast según se describe en este documento, provoca una respuesta terapéutica positiva en el tratamiento de una drogadicción o adicción conductual, tal como disminuir o eliminar la conducta relacionada con la adicción de un sujeto, disminuir o eliminar la ansia asociada con la adicción a una droga o de una conducta en un sujeto, disminuir o eliminar la tolerancia a una droga en un sujeto, disminuir o eliminar la trascendencia incentivada de las pautas asociadas a una drogadicción o una adicción conductual en un sujeto y/o disminuir o eliminar los síntomas de la abstinencia provocados por la reducción o el cese del uso de la droga o de la conducta adictiva por parte de un sujeto.

I. MODOS DE LLEVAR A CABO LA INVENCION

60 La presente invención se basa en el descubrimiento de una nueva metodología terapéutica para tratar de forma segura y eficaz la adicción con ibudilast. Los usos de la invención reducen la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens*, que está asociada con el ansia y la conducta compulsiva en adictos. Los usos de la invención son particularmente útiles para disminuir o eliminar la conducta relacionada con la adicción y aliviar los síntomas de los síndromes de abstinencia en un sujeto.

Con objeto de comprender adicionalmente la invención, a continuación se proporciona un análisis más detallado relativo al tratamiento de las adicciones con ibudilast.

TRATAMIENTO DE LAS ADICCIONES CON IBUDILAST

5 Se cree que la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* media en la "recompensa" que motiva el uso de drogas y la conducta compulsiva que se asocian a las adicciones. En un aspecto, la invención proporciona ibudilast para su uso en el tratamiento de una drogadicción en un sujeto mediante la supresión de la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* de dicho sujeto, disminuyendo o eliminando así el ansia asociada con la adicción a una o más drogas en un sujeto.

10 En la presente solicitud se ha demostrado que el ibudilast suprime la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens*. Según se muestra en el Ejemplo 3, el ibudilast suprime la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* en ratas tratadas con morfina, medida mediante de microdiálisis *in vivo*. Además, el ibudilast suprime los signos conductuales inducidos por naloxona de la abstinencia de morfina en ratas.

15 Por lo tanto, la invención se refiere al uso de ibudilast para tratar adicciones, y en particular, al uso de ibudilast para atenuar o abolir la "recompensa" mediada por dopamina asociada con las adicciones, disminuyendo o eliminando así el ansia asociada con las adicciones y la conducta y los síndromes de abstinencia que los acompañan relacionados con la adicción en un sujeto.

20 Se administró una cantidad terapéuticamente eficaz de ibudilast a un sujeto para tratar una drogadicción. El sujeto puede ser adicto a una o más drogas incluyendo psicoestimulantes, analgésicos narcóticos, alcoholes y alcaloides adictivos tales como nicotina, cannabinoides o combinaciones de los mismos. Algunos ejemplos de psicoestimulantes incluyen anfetamina, dextroanfetamina, metanfetamina, fenmetracina, dietilpropion, metilfenidato, cocaína, fenciclidina, metilendioximetanfetamina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Algunos ejemplos de analgésicos narcóticos incluyen alfentanilo, alfaprodina, anileridina, bectramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanilo, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfano, levorfanol, metazocina, metadona, metopon, morfina, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverulento, opio granulado, opio en bruto, tintura de opio, oxycodona, oximorfona, petidina, fenazocina, piminodina, racemeterfano, racemorfano, tebaína y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Algunas drogas adictivas incluyen también depresores del sistema nervioso central, tales como barbituratos, clordiazepóxido y alcoholes, tales como etanol, metanol y alcohol isopropílico.

25 También se desvela una cantidad terapéuticamente eficaz de ibudilast para su uso en el tratamiento de una adicción conductual. Una adicción conductual puede incluir adicciones conductuales, por ejemplo, comer, beber, fumar, comprar, jugar, sexo y el uso de ordenadores de forma compulsiva.

30 En ciertas formas de realización, el ibudilast se usa en una terapia de combinación con uno o más de otros agentes para el tratamiento de una drogadicción. Dichos agentes incluyen analgésicos, AINEs, antieméticos, antidiarreicos, antagonistas alfa-2, benzodiacepinas, anticonvulsivantes, antidepresivos y terapéuticos para el insomnio. Algunos agentes ejemplares incluyen buprenorfina, naloxona, metadona, acetato de levometadilo, L-alfa acetilmetadol (LAAM), hidroxicina, difenoxilato, atropina, clordiazepóxido, carbamazepina, mianserina, benzodiazepina, fenociacina, disulfiram, acamprosato, topiramato, ondansetron, sertralina, bupropión, amantadina, amilorida, isradipino, tiagabina, baclofen, propranolol, desipramina, carbamazepina, valproato, lamotrigina, doxepina, fluoxetina, imipramina, moclobemida, nortriptilina, paroxetina, sertralina, triptófano, venlafaxina, trazodona, quetiapina, zolpidem, zopiclona, zaleplon, gabapentina, naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina y diacepam.

TRATAMIENTO DE LA ABSTINENCIA DE OPIÁCEOS CON IBUDILAST

35 La presente invención también se refiere a nuevas metodologías antiinflamatorias para tratar la dependencia y la abstinencia de opioides, y específicamente el uso de ibudilast como un tratamiento terapéutico eficaz para la abstinencia de morfina. Se cree que las manifestaciones clínicas de la abstinencia de morfina son el resultado, en parte, de la activación glial en el sistema nervioso central (Narita y col. (2006) *Nature Neuropsychopharmacology* 1 - 13). El ibudilast es un fármaco antiinflamatorio con la capacidad de regular por disminución la activación de las células gliales Mizuno y col. (2004) *Neuropharmacology* 46: 404 - 411; Suzumura y col. (1999) *Brain Res.* 837: 203 - 212; Wakita y col. (2003) *Brain Res.* 992: 53 - 59. La administración por vía sistémica (por ejemplo, oral) o central (por ejemplo, intratecal) de ibudilast proporciona una nueva metodología para atenuar la abstinencia de morfina, proporcionando así un tratamiento eficaz para una dolencia con pocas opciones terapéuticas buenas.

40 El ibudilast actúa para suprimir la inflamación mediante la acción sobre las células inflamatorias (por ejemplo, células gliales) dando como resultado la supresión de la liberación tanto del mediador proinflamatorio como del mediador neuroactivo. Aunque el ibudilast (administrado por vía sistémica) se ha explorado ampliamente en otras diversas indicaciones clínicas, previamente no se había propuesto para el alivio de la abstinencia de morfina.

45 Un grueso creciente de bibliografía sugiere que el tratamiento repetitivo con morfina puede dar como resultado una activación de las células gliales (microglia, astrocitos), y que dicha activación puede contribuir a las secuelas de los episodios asociados con la tolerancia y la abstinencia de morfina.

50 Numerosas pautas activan la glia: cambios inmunitarios, infección y/o inflamación periférica, sustancias liberadas durante una prolongada transmisión de neurona a neurona (por ejemplo, neurotransmisores, óxido nítrico, prostaglandinas, sustancia P, fractalquina, etc.), daños neuronales (por ejemplo, fractalquina, proteínas de choque térmico, componentes de la pared celular), etc. La función glial cambia drásticamente tras su activación, dando como resultado una elevada liberación de sustancias neuroactivas. Se cree que dichos episodios contribuyen a una alteración en la función neurológica, con manifestaciones que varían desde la neurodegeneración hasta la facilitación del dolor, con una sensibilización de la dependencia a la morfina y el subsiguiente síndrome de abstinencia. Watkins y Maier (2002) *Physiol. Rev.* 82: 981 - 1011; Watkins y Maier (2004) *Drug. Disc. Today: Ther. Strategies* 1 (1): 83 - 88, etc.

Según la presente invención, puede usarse el ibudilast para reducir esta indeseada activación glial. El ibudilast atraviesa la barrera hematoencefálica cuando se administra por vía sistémica (Sugiyama y col. (1993) *No To Shinkei* 45 (2): 139 - 42; véase también la FIG. 2 en este documento), eliminando la necesidad de procedimientos de administración más invasivos con objeto de acceder a los sitios centrales de la inflamación implicados en la patogenia de la dependencia y de la abstinencia de la morfina. Aunque ciertos agentes como minociclina y fluorocitrato pueden tener cierta actividad en la *prevención* de la activación glial, son inaceptables para la terapia en seres humanos. El fluorocitrato es inaceptable porque puede bloquear la captación glial de aminoácidos excitadores (Berg-Johnsen y col. (1993) *Exp. Brain Res.* 96 (2): 241 - 6), una función esencial de la glia para el mantenimiento de la homeostasis normal del SNC, y una duración prolongada o dosis aumentadas de fluorocitrato provocan convulsiones. Willoughby J. O., y col. (2003) *J. Neurosci. Res.* 74 (1): 160 - 66; Hornfeldt. C. S. y Larson, A. A. (1990) *Eur. J. Pharmacol* 179 (3): 307 - 13. Aunque la minociclina puede ser útil en la prevención de la activación glial, no parece ser capaz de revertir las situaciones actuales. Raghavendra y col. (2003) *J. Pharmacol. and Exp. Therapeutics* 306; 624 - 30; Ledebøer, A., y col. (2005) *Pain* 115: 71 - 83.

Tomados en conjunto, la glia y sus productos proinflamatorios o neuromoduladores pueden presentar oportunidades de nuevas estrategias para controlar la abstinencia de morfina. En una forma de realización de la presente invención, se usa el ibudilast para bloquear la liberación de citocinas proinflamatorias y sustancias neuromoduladoras. El ibudilast es un potente supresor de la activación glial. Mizuno y col. (2004) *Neuropharmacology* 46: 404 - 11 de una forma dependiente de la dosis, el ibudilast suprimió la producción de óxido nítrico (NO), de especies de oxígeno reactivas, de interleucina (IL)-1 β , de IL-6 y del factor de necrosis tumoral (TNF), y aumentó la producción de la citocina inhibidora, IL-10, y de factores neurotróficos adicionales, incluyendo el factor de crecimiento nervioso (NGF), el factor neurotrófico derivado de la glia (GDNF) y la neurotrofina (NT)-4 en la microglia activada.

En una forma de realización de la presente invención, se administra ibudilast por vía sistémica o intratecal en sujetos humanos para el tratamiento de los síndromes de abstinencia de morfina.

En otras formas de realización, el ibudilast se administra por vía sistémica (por ejemplo, oral) o central (por ejemplo, intratecal) para atenuar los elementos neuropatológicos de la abstinencia de morfina.

Existe información disponible en las siguientes publicaciones: Obernolte, R., y col. (1993) *Gene* 129: 239 - 47; Rile, G., y col. (2001) *Thromb. Res.* 102: 239 - 46; Souness, J. E., y col. (1994) *Br. J. Pharmacol* 111: 1081 - 88; Suzumura A., y col. (1999) *Brain Res.* 837: 203 - 12; Takuma, K. y col (2001) *Br. J. Pharmacol.* 133: 841 - 848.

El ibudilast también puede administrarse en combinación con uno o más de otros agentes como parte de un protocolo del tratamiento integral de la abstinencia de opioides. Dichos agentes incluyen los siguientes agentes:

naltrexona (17-(ciclopropilmetil)-4,5 α -epoxi-3,14-dihidroximorfinan-6-ona. CAS N° 16676-29-2 (HCl)) tiene la fórmula molecular C₂₀H₂₃NO₄ y un peso molecular de 341,4.

metoclopramida (4-amino-5-cloro-N-(2-dietilaminoetil)-2-metoxi-benzamida, CAS N° 364-62-5) tiene la fórmula molecular C₁₄H₂₂ClN₃O₂ y un peso molecular de 299,8.

loperamida (4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxi-1-piperidil]-N,N-dimetil-2,2-difenilbutanamida, CAS N° 53179-11-6) tiene la fórmula molecular C₂₉H₃₃ClN₂O₂ y un peso molecular de 477,04.

diacepam (10-cloro-6-metil-2-fenil-3,6-diazabicyclo[5.4.0]undeca-2,8,10,12-tetraen-5-ona, CAS N° 439-14-5) tiene la fórmula molecular C₁₆H₁₃ClN₂O y un peso molecular de 284,74.

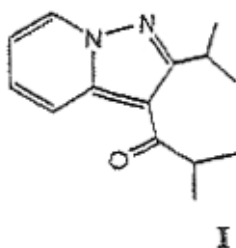
clorhidrato de clonidina (2-(2,6-diclorofenilamino)-2-imidazolina, CAS N° 4205-90-7) tiene la fórmula molecular C₉H₉Cl₂N₃-HCl y un peso molecular de 266,56.

paracetamol (N-(4-hidroxifenil) etanamida, CAS N° 103-90-2), también denominado acetaminofenol, tiene la fórmula molecular C₈H₉NO₂ y un peso molecular de 151,2.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS PARA TRATAR LA ADICCIÓN

IBUDILAST

El ibudilast es un fármaco de molécula pequeña (peso molecular de 230,3) con la estructura que se muestra a continuación.



El ibudilast también se encuentra en ChemBank ID 3227, CAS # 50847-11-5, y en el Beilstein Handbook Reference N° 5-24-03-00396. Su fórmula molecular se corresponde con [C₁₄H₁₈N₂O]. El ibudilast también es conocido

5 por diversos nombres químicos que incluyen 2-metil-1-(2-(1-metiletil) pirazolo(1,5-a)piridin-3-il)1-propanona; 3-isobutiril-2-isopropilpirazolo (1,5-a) piridina]; y 1-(2-isopropil-pirazolo[1,5-a]piridin-3-il-2-metil-propan-1-ona. Otros sinónimos del ibudilast incluyen ibudilastum (Latín); BRN 0656579, KC-404. Y el nombre comercial Ketas®. El ibudilast, según se menciona en este documento, se entiende que incluye cualquiera y todas las formas salinas farmacéuticamente aceptables del mismo según sea apropiado para su uso en su formulación destinada a su administración.

10 El ibudilast es un inhibidor no selectivo de la fosfodiesterasa de nucleótidos (PDE) (más activo frente a PDE-3, PDE-4, PDE-10 y PDE-11 (Gibson y col (2006) Eur. J. Pharmacology 538: 39 - 42)), y también se ha informado de que tiene actividades antagonistas de LTD4 y PAF. Su perfil parece efectivamente antiinflamatorio y único en comparación con otros inhibidores de la PDE y agentes antiinflamatorios. Las PDEs catalizan la hidrólisis del enlace fosfoéster en el carbono en 3' para producir el correspondiente monofosfato de 5'-nucleótido. Por lo tanto, regulan las concentraciones celulares de nucleótidos cíclicos. Dado que los receptores extracelulares de muchas hormonas y neurotransmisores utilizan nucleótidos cíclicos como segundos mensajeros, las PDEs también regulan las respuestas celulares a estas señales extracelulares. Existen 11 familias de PDEs: PDEs dependientes de Ca^{2+} /calmodulina (PDE1); PDEs estimuladas por GMPc (PDE2); PDEs inhibidas por GMPc (PDE3); PDEs específicas para AMPc (PDE4); PDEs de unión al GMPc (PDE5); PDEs fotorreceptoras (PDE6); PDEs de alta afinidad específicas para AMPc (PDE7); PDE específica (PDE8); PDEs de alta afinidad específicas para GMPc (PDE9); y PDEs mixtas de AMPc y GMPc (PDE10, PDE11).

20 Según se estableció previamente, una referencia a uno cualquiera o más de los fármacos descritos en este documento, en particular a ibudilast, se entiende que engloba, donde sea aplicable, cualquiera y todos los enantiómeros, mezclas de enantiómeros incluyendo mezclas racémicas, formas salinas farmacéuticamente aceptables, hidratos (por ejemplo, monohidratos, dihidratos, etc.) y formas físicas diferentes (por ejemplo, sólidos cristalinos, sólidos amorfos).

COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN

Excipientes/Portadores

25 Opcionalmente, además del ibudilast, las composiciones de la invención pueden comprender adicionalmente uno o más excipientes o portadores farmacéuticamente aceptables. Algunos excipientes ejemplares incluyen carbohidratos, almidones (por ejemplo, almidón de maíz), sales inorgánicas, agentes antimicrobianos, antioxidantes, aglutinantes/agentes de relleno, tensioactivos, lubricantes (por ejemplo, estearato cálcico o magnésico), deslizantes tales como talco, disgregantes, diluyentes, tampones, ácidos, bases, recubrimientos en película; o combinaciones de los mismos.

30 Una composición de la invención pueden incluir uno o más carbohidratos tales como un azúcar, un azúcar derivatizado tal como un alditol, ácido aldónico, un azúcar esterificado y/o un polímero de azúcar. Algunos excipientes de carbohidratos específicos incluyen, por ejemplo: monosacáridos, tales como fructosa, maltosa, galactosa, glucosa, D-manosa y sorbosa; disacáridos, tales como lactosa, sacarosa, trehalosa y celobiosa, polisacáridos, tales como ramnosa, melecitosa, maltodextrinas, dextranos, almidones y similares; y alditoles, tales como manitol, xilitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), piranosil sorbitol y mioinositol.

También son adecuados para su uso en las composiciones de la invención almidones basados en patata y maíz tales como glucolato sódico de almidón y almidón modificado compresible directamente.

40 Algunos excipientes representativos adicionales incluyen sales inorgánicas o tampones tales como ácido cítrico, cloruro sódico, cloruro potásico, sulfato sódico, nitrato potásico, fosfato sódico monobásico, fosfato sódico dibásico, y combinaciones de los mismos.

45 Una composición que contiene ibudilast de la invención también puede incluir un agente antimicrobiano, por ejemplo, para prevenir o impedir el crecimiento microbiano. Algunos ejemplos de agentes antimicrobianos adecuados para la presente invención incluyen cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, alcohol bencílico, cloruro de cetilpiridinio, clorobutanol, fenol, alcohol feniletílico, nitrato de fenilmercurio, timersol y combinaciones de los mismos.

50 Una composición de la invención también puede contener uno o más antioxidantes. Los antioxidantes se usan para evitar la oxidación, evitando así el deterioro del (los) fármaco(s) o de los otros componentes de la preparación. Algunos antioxidantes adecuados para su uso en la presente invención incluyen, por ejemplo, palmitato de ascorbilo, butilhidroxianisol, butilhidroxitolueno, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, galato de propilo, bisulfito sódico, sulfoxilato sódico de formaldehído, metabisulfito sódico y combinaciones de los mismos,

55 Algunos excipientes adicionales incluyen tensioactivos tales como polisorbatos, por ejemplo, "Tween 20" y "Tween 80," y pluronics tales como F6S y F88 (ambos están disponibles en BASF, Mount Olive, Nueva Jersey), ésteres de sorbitano, lípidos (por ejemplo, fosfolípidos tales como lecitina y otras fosfatidilcolinas, y fosfatidiletanolaminas), ácidos grasos y ésteres grasos, esteroides tales como colesterol, y agentes quelantes, tales como EDTA, cinc y otros cationes adecuados similares.

60 Además, una composición de la invención puede incluir opcionalmente uno o más ácidos o bases. Algunos ejemplos de ácidos que pueden usarse incluyen aquellos activos elegidos del grupo que consiste en ácido clorhídrico, ácido acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido málico, ácido láctico, ácido fórmico, ácido tricloroacético, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico y combinaciones de los mismos. Algunos ejemplos de bases adecuadas incluyen bases elegidas del grupo que consiste en hidróxido sódico, acetato sódico, hidróxido de amonio, hidróxido potásico, acetato amónico, acetato potásico, fosfato sódico, fosfato potásico, citrato sódico, formiato sódico, sulfato sódico, sulfato potásico, fumarato potásico y combinaciones de los mismos.

La cantidad de cualquier excipiente individual en la composición variará dependiendo del papel del excipiente, de los requerimientos de dosis de los componentes agentes activos y de las necesidades particulares de la

composición. Típicamente, la cantidad óptima de cualquier excipiente individual se determina mediante experimentación rutinaria, es decir, preparando composiciones que contienen cantidades variables del excipiente (que varían desde bajas a altas), examinando la estabilidad y otros parámetros, y determinando después el intervalo en el que se alcanza el rendimiento óptimo sin ningún efecto adverso significativo.

5 Generalmente, sin embargo, el excipiente estará presente en la composición en una cantidad desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 99% en peso, preferiblemente desde aproximadamente el 5% hasta aproximadamente el 98% en peso, más preferiblemente desde aproximadamente el 15% hasta aproximadamente el 95% en peso del excipiente. En general, la cantidad de excipiente presente en una composición de ibudilast de la invención se elige de entre las siguientes: al menos aproximadamente el 2%, el 5%, el 10%, el 15%, el 20%, el 25%, el 30%, el 35%, el 40%, el 45%, el 50%, el 55%, el 60%, el 65%, el 70%, el 75%, el 80%, el 85%, el 90% o incluso el 95% en peso.

10 Estos anteriores excipientes farmacéuticos, junto con otros excipientes, se describen en "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), en "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), y en Kibbe, A. H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edición, American Pharmaceutical Association, Washington, D. C., 2000.

15 Otros principios activos

Una formulación (o kit) según la invención puede contener, además de ibudilast, uno o más agentes activos adicionales eficaces en el tratamiento de la adicción. Preferiblemente, el agente activo es aquel que posee un mecanismo de acción diferente al del ibudilast. Dichos principios activos incluyen naltrexona, metoclopramida, loperamida, diazepam, clonidina, lofedidina y paracetamol.

20 Formulaciones de liberación sostenida

Preferiblemente, las composiciones se formulan con objeto de mejorar la estabilidad y prolongar la semivida del ibudilast. Por ejemplo, el ibudilast puede administrarse en formulaciones de liberación sostenida. Las formulaciones de liberación controlada o sostenida se preparan incorporando el ibudilast en un portador o vehículo tal como liposomas, polímeros impermeables no reabsorbibles tales como copolímeros de etilvinilo y copolímeros de Hytrel®, polímeros hinchables tales como hidrogeles, o polímeros reabsorbibles tales como colágeno y ciertos poliácidos o poliésteres tales como aquellos usados para hacer suturas reabsorbibles. Adicionalmente, el ibudilast puede ser encapsulado, absorbido a, o asociado con, portadores particulados. Algunos ejemplos de portadores particulados incluyen los obtenidos a partir de polímeros de metacrilato de polimetilo, así como micropartículas derivadas de polilactidas y poli(lactida-co-glicólidos), conocidas como PLG. Véase, por ejemplo, Jeffery y col., *Pharm. Res.* (1993) 10: 362 - 368; y McGee y col. *J. Microencap.* (1996).

FORMAS DE ADMINISTRACIÓN

35 Las composiciones de ibudilast descritas en este documento engloban todos los tipos de formulaciones, y en particular, aquellas que son adecuadas para su administración por vía sistémica o intratecal. Las formas de dosificación oral incluyen comprimidos, comprimidos oblongos, cápsulas, jarabes, suspensiones orales, emulsiones, gránulos y pellas. Algunas formulaciones alternativas incluyen aerosoles, parches transdérmicos, geles, cremas, ungüentos, supositorios, polvos liofilizados que pueden ser reconstituídos, así como líquidos. Algunos ejemplos de diluyentes adecuados para reconstituir composiciones sólidas, por ejemplo, antes de su inyección, incluyen agua bacteriostática para inyección, dextrosa al 5% en agua, disolución salina tamponada con fosfato, disolución de Ringer, suero salino, agua estéril, agua desionizada y combinaciones de los mismos. Con respecto a las composiciones farmacéuticas líquidas, se contemplan disoluciones y suspensiones.

40 Volviendo a las formulaciones para administración oral, los comprimidos pueden elaborarse mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes o aditivos accesorios. Los comprimidos por compresión se preparan, por ejemplo, comprimiendo en una máquina de comprimir adecuada, los principios activos en una forma que fluyan libremente tal como en polvo o en gránulos, mezclados opcionalmente con un aglutinante (por ejemplo, povidona, gelatina, hidroxipropilmetil celulosa), un lubricante, un diluyente inerte, un conservante, un disgregante (por ejemplo, glucolato sódico de almidón, povidona reticulada, carboximetil celulosa sódica reticulada) y/o un agente tensioactivo o dispersante.

45 Los comprimidos por moldeo se elaboran, por ejemplo, mediante moldeo en una máquina de comprimir adecuada, de una mezcla de los compuestos pulverulentos humedecidos con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden opcionalmente recubrirse o grabarse, y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada de los principios activos, usando, por ejemplo, hidroxipropilmetil celulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden proporcionarse opcionalmente con un recubrimiento, tal como una película fina, un recubrimiento de azúcar o un recubrimiento entérico para proporcionar su liberación en partes del intestino distintas al estómago. Los procesos, el equipo y los fabricantes subcontratados para la elaboración de comprimidos y cápsulas son bien conocidos en la técnica.

50 Las formulaciones para su administración tópica en la boca incluyen comprimidos oblongos que comprenden los principios activos, generalmente con una base saborizada tal como sacarosa y acacia o tragacanto, y pastillas que comprenden los principios activos en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y acacia.

55 Una composición farmacéutica para su administración tópica también puede formularse como un ungüento, una crema, una suspensión, una loción, un polvo, una disolución, una pasta, un gel, un pulverizador, un aerosol o un aceite.

Alternativamente, la formulación puede estar en forma de un parche (por ejemplo, un parche transdérmico) o de un apósito, tal como una venda o una tirita impregnada con los principios activos y opcionalmente uno más

excipientes o diluyentes. Las formulaciones tópicas pueden incluir adicionalmente un compuesto que mejore la absorción o la penetración de los ingredientes a través de la piel o de otras áreas afectadas, tales como dimetilsulfoxidem bisabolol, ácido oleico, miristato de isopropilo y D-limoneno, por nombrar unos pocos.

5 Aunque esta fase puede comprender simplemente una emulsionante (también conocido como emulgente), deseablemente comprende una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa y/o un aceite. Preferiblemente se incluye una emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. En conjunto, el (los) emulsionante(s) con o sin estabilizante(s) forman la denominada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y/o la
10 grasa crean la denominada base de ungüento en emulsionante que forma la fase dispersada oleosa de las formulaciones en crema. Algunos emulgentes y estabilizantes de emulsión ilustrativos incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y lauril sulfato sódico.

Las formulaciones para su administración por vía rectal son típicamente en forma de un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato.

15 Las formulaciones adecuadas para su administración por vía vaginal generalmente tienen la forma de un supositorio, un tampón, una crema, un gel, una pasta, una espuma o un aerosol.

Las formulaciones adecuadas para su administración nasal, en las que el portador es un sólido, incluyen un polvo grueso con un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo desde aproximadamente 20 hasta aproximadamente 500 micrómetros. Dicha formulación se administra típicamente mediante una inhalación rápida a través de las fosas nasales, por ejemplo, desde un recipiente con el polvo mantenido en las cercanías de la nariz. Alternativamente, una formulación para su administración nasal puede estar en forma de un líquido, por ejemplo, un aerosol nasal o unas gotas nasales.
20

Las formulaciones aerosolizables para inhalación pueden estar en forma de un polvo seco (por ejemplo, adecuadas para su administración mediante un inhalador de polvo seco), o como alternativa, pueden estar en forma líquida, por ejemplo, para su uso en un nebulizador. Los nebulizadores para la administración de una disolución aerosolizada incluyen el AERx™ (Aradigm), el Ultravent® (Mallinkrodt) y el Acorn II® (Marquest Medical Products). Una composición de la invención también puede administrarse usando un inhalador dosificador presurizado (MDI), por ejemplo, el inhalador dosificador Ventolin®, que contiene una disolución o una suspensión de una combinación de fármacos según se describen en este documento en un propelente líquido farmacéuticamente inerte, por ejemplo, un clorofluorocarbono o un fluorocarbono.
25

30 Las formulaciones adecuadas para su administración por vía parenteral incluyen disoluciones estériles isotónicas acuosas y no acuosas adecuadas para inyección, así como suspensiones estériles acuosas y no acuosas.

Las formulaciones parenterales de la invención están opcionalmente contenidas en recipientes precintados unidosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden estar almacenados en un estado criodesecado (liofilizado) que únicamente requiere la adición de un portador líquido estéril, por ejemplo, agua para inyección, inmediatamente antes de su uso. Las disoluciones y las suspensiones extemporáneas para inyección pueden prepararse a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles de los tipos descritos previamente.
35

Una formulación de la invención también puede ser una formulación de liberación sostenida, de forma que cada uno de los componentes farmacológicos sea liberado o absorbido lentamente con el tiempo, cuando se compara con una formulación de liberación no sostenida. Las formulaciones de liberación sostenida pueden emplear formas de profármacos del agente activo, sistemas de administración del fármaco de liberación retardada tales como liposomas o matrices poliméricas, hidrogeles o la unión covalente de un polímero, tal como polietilenglicol, al agente activo.
40

Además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones de la invención pueden incluir opcionalmente otros agentes convencionales en el arte farmacéutico, y en el tipo en particular de formulación que se va a emplear, por ejemplo, para formas de administración oral, la composición para administración oral también puede incluir agentes adicionales tales como agentes edulcorantes, dispersantes o saborizantes.
45

Las composiciones de la presente invención también pueden prepararse en una forma adecuada para aplicaciones veterinarias

PROCEDIMIENTO DE ADMINISTRACIÓN

50 Según se estableció anteriormente, los procedimientos preferidos de administración de formulaciones terapéuticas basadas en ibudilast para el tratamiento de adicciones incluyen la administración sistémica y localizada, es decir, directamente en el sistema nervioso central. Dichas vías de administración incluyen oral, intraarterial, intratecal, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, intravenosa, intranasal y vías por inhalación.

Más particularmente, una formulación que contiene ibudilast de la presente invención puede administrarse para terapia mediante cualquier vía apropiada, incluyendo oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo transdérmica, en aerosol, bucal y sublingual), vaginal, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica), intratecal y pulmonar. La vía preferida variará, por supuesto, según el estado y la edad del receptor, el síndrome asociado a la neuralgia en particular que se va a tratar y la combinación específica de fármacos empleada.
55

Un modo preferido de administración para la administración de ibudilast es directamente en el tejido neural tal como en los nervios periféricos, la retina, los ganglios de la raíces dorsales, la unión neuromuscular, así como en el SNC, por ejemplo, para dirigirlo a las células gliales de la médula espinal mediante una inyección, por ejemplo, en la región ventricular, así como en el *striatum* (por ejemplo, el núcleo caudado o el putamen del *striatum*), la médula espinal y la unión neuromuscular, con una aguja, un catéter o un dispositivo relacionado, usando técnicas neuroquirúrgicas conocidas en la técnica, tales como mediante inyección estereotáctica (véase, por ejemplo, Stein y col., *J. Virol.* 75:
60

3424 - 3429, 1999; Davidson y col., *PNAS* 97: 3428 - 3432, 2000; Davidson y col., *Nat. Genet.* 5: 219 - 223, 1993; y Alisky y Davidson, *Hum. Gene Ther.* 77: 2315 - 2329, 2000).

Un procedimiento particularmente preferido para dirigirse a la glia de la médula espinal es mediante la administración intratecal, en lugar de en el propio tejido espinal.

Otro procedimiento preferido para la administración de composiciones basadas en ibudilast de la invención es mediante la administración en las neuronas de los ganglios de las raíces dorsales (DRG), por ejemplo, mediante inyección en el espacio epidural con el subsiguiente difusión a los DRG. Por ejemplo, una composición basada en ibudilast puede administrarse mediante canulación por vía intratecal en unas condiciones en las que el ibudilast es difundido a los DRG. Véase, por ejemplo, Chiang y col., *Acta Anaesthesiol. Sin.* (2000) 38: 31 - 36; Jain, K. K., *Expert Opin. Investig. Drugs* (2000) 9: 2403 - 2410.

Otro modo más de administración en el SNC usa un sistema de administración basado en convección (CED), de esta forma el ibudilast puede administrarse a muchas células en grandes áreas del SNC. Cualquier dispositivo con una administración por convección mejorada puede ser apropiado para la administración de ibudilast. En una forma de realización preferida, el dispositivo es una bomba osmótica o una bomba de infusión. Tanto las bombas osmóticas como las de infusión están disponibles en el mercado en diversos proveedores, por ejemplo Aizet Corporation, Hamilton Corporation, Alza, Inc., Palo Alto, California). Típicamente, una composición basada en ibudilast de la invención se administra a través de dispositivos CED como sigue. Se inserta un catéter, una cánula u otro dispositivo de inyección en el tejido del SNC en el sujeto elegido. Hay disponibles mapas estereotácticos y dispositivos de posicionamiento, por ejemplo, en ASI Instruments, Warren, MI. El posicionamiento también puede realizarse usando mapas anatómicos obtenidos mediante imágenes de TAC y/o RM para ayudar a guiar el dispositivo de inyección hasta el objetivo elegido. Para una descripción detallada relativa a la administración por CED, véase la patente de EE.UU. Nº 6.309.634.

Una composición de ibudilast para su uso en la invención, cuando comprende más de un agente activo, puede administrarse como una única composición de combinación que comprende una combinación de ibudilast y al menos un agente activo adicional eficaz en el tratamiento de la adicción. En términos de cumplimiento por parte del paciente y de facilidad de administración, se prefiere dicha metodología dado que los pacientes a menudo son reacios a tomar múltiples píldoras o formas de dosificación, a menudo muchas veces al día, durante la duración del tratamiento. Alternativamente, aunque menos preferiblemente, la combinación de la invención se administra como formas de dosificación separadas. En los casos en los que los fármacos que comprenden la composición terapéutica de la invención se administran como formas de dosificación separadas y se requiera una coadministración, el ibudilast y cada uno de los agentes activos adicionales pueden administrarse simultáneamente, secuencialmente en cualquier orden o por separado.

KITS

También se proporciona en este documento un kit que contiene al menos una composición de combinación de la invención, acompañado por las instrucciones de uso.

Por ejemplo, en los casos en los que cada uno de los fármacos se administra por sí mismo como formas de dosificación individuales o por separado, el kit comprende ibudilast además de cada uno de los fármacos que forman la composición de la invención, junto con las instrucciones de uso. Los componentes farmacológicos pueden envasarse de cualquier forma adecuada para su administración, siempre que el envase, cuando se considera junto con las instrucciones de uso, indique claramente la forma en la que debe administrarse cada uno de los componentes farmacológicos.

Por ejemplo, para un kit ilustrativo que comprende ibudilast y naltrexona, el kit puede organizarse en cualquier periodo de tiempo apropiado, tal como diariamente. Como un ejemplo, para el Día 1, un kit representativo puede comprender dosis unitarias de cada uno de ibudilast y naltrexona. Si cada uno de los fármacos se va a administrar dos veces al día, entonces el kit puede contener, correspondiente al Día 1, dos filas de formas de dosificación unitarias de cada uno de ibudilast y naltrexona, junto con instrucciones para la sincronización de la administración. Alternativamente, si uno o más de los fármacos difiere en el momento o en la cantidad de forma de dosificación unitaria que se va a administrar en comparación con los otros miembros farmacológicos de la combinación, entonces esto debería estar reflejado en el envase y en las instrucciones. Diversas formas de realización según lo anterior pueden contemplarse fácilmente, y dependerían por tanto de la combinación de fármacos en particular, además de ibudilast, empleados para el tratamiento, de sus correspondientes formas de dosificación, de las dosis recomendadas, de la población de pacientes objetivo, y similares. El envase puede estar en cualquier forma empleada habitualmente para el envasado de productos farmacéuticos, y puede utilizar cualquiera de diversas características tales como diferentes colores, envoltorios, envase resistente a las falsificaciones, envases alveolados y desecantes.

DOSIS

Las cantidades terapéuticas pueden determinarse empíricamente y variarán según la dolencia en particular que se va a tratar, el sujeto y la eficacia y la toxicidad de cada uno de los agentes activos contenidos en la composición. La dosis real que se va a administrar variará dependiendo de la edad, del peso, del estado general del sujeto, así como de la gravedad de la dolencia que se va a tratar, del juicio del profesional de la salud y de la combinación en particular que se va a administrar.

Las cantidades terapéuticamente eficaces pueden ser determinadas por los expertos en la técnica, y se ajustarán según los requisitos de cada caso particular. Generalmente, una cantidad terapéuticamente eficaz de ibudilast variará desde una dosis total diaria, por ejemplo en seres humanos, de aproximadamente 0,1 y 500 mg/día, más preferiblemente, en una cantidad de entre 1 y 200 mg/día, 1 y 100 mg/día, 1 y 40 mg/día o 1 y 20 mg/día. La administración puede ser entre 1 y 3 veces al día durante un periodo de tiempo de un día hasta varios días, semanas, meses e incluso años, e incluso puede ser para el resto de la vida del paciente.

5 Hablando de forma práctica, una dosis unitaria de cualquier composición dada de la invención o de agente activo puede administrarse según varios esquemas de dosificación, dependiendo del juicio del médico tratante, de las necesidades del paciente y similares. El esquema de dosificación específico será conocido por el experto habitual en la técnica o podrá ser determinado experimentalmente usando procedimientos rutinarios. Algunos ejemplos de esquemas de dosificación incluyen una administración cinco veces al día, cuatro veces al día, tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, en días alternos, tres veces por semana, dos veces por semana, una vez por semana, dos veces al mes, una vez al mes, y similares.

III. EXPERIMENTAL

10 A continuación hay ejemplos de formas de realización específicas para llevar a cabo la presente invención. Los ejemplos se ofrecen únicamente con propósito ilustrativo.

Se han realizado esfuerzos para asegurar la precisión con respecto a las cifras usadas (por ejemplo, cantidades, temperaturas, etc.), pero por supuesto podría haber margen para ciertos errores y desviaciones experimentales.

EJEMPLO 1

15 FARMACOCINÉTICA Y DISTRIBUCIÓN TISULAR DEL IBUDILAST EN RATAS

La farmacocinética y la distribución plasmática del ibudilast en músculo, cerebro y médula espinal se evaluaron como sigue.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

20 El ibudilast para su administración en ratas se preparó en etanol/suero salino al 15%. La estabilidad y la concentración del fármaco se validaron mediante HPLC/EM/EM.

Se usaron ratas Sprague-Dawley macho adultos exentas de patógenos (280 - 350 g; Harfan Labs) en todos los experimentos. Las ratas se alojaron en habitaciones con la temperatura (23 +/- 3°C) y la luz (12:12 luz:oscuridad; luces encendidas a las 0700 h) controladas, con alimento estándar para roedores y agua disponible *ad libitum*. La prueba de conducta se realizó durante el ciclo de luz.

25 A las ratas (n = 3/grupo) se les administraron 5 mg/kg de ibudilast, i.p., y se recogió plasma, músculo, cerebro y médula espinal a los 5, 15, 60, 180 y 420 minutos después de la administración. La concentración del ibudilast en las muestras de tejido se determinó como sigue. Se usó una disolución de ibudilast (Haorui) a 0,5 mg/ml en DMSO como la disolución madre de referencia de trabajo. Los estándares de calibrado en plasma se prepararon diluyendo cada 0,5 mg/ml de disolución madre 1 a 100 en plasma de rata hasta 5.000 ng/ml (5 µl + 495 µl) y después se diluyeron adicionalmente hasta 2,29 ng/ml mediante diluciones de tres veces en serie con plasma. Los estándares se usaron como muestras de QC bajo, medio y alto, respectivamente.

30 Los estándares de calibrado, el QC y las muestras de plasma en estudio se prepararon para su inyección en HPLC mediante precipitación de 25 µl de plasma con tres volúmenes (75 µl) de acetonitrilo enfriado en hielo que contiene 50 ng/ml de difenhidramina y 100 ng/ml de dextrometorfano como patrones internos. Las muestras tisulares en estudio se prepararon para su inyección en HPLC añadiendo 1 µl de agua por mg de tejido más tres volúmenes (relativos al agua) de acetonitrilo enfriado en hielo que contiene 50 ng/ml de difenhidramina y 100 ng/ml de dextrometorfano como patrones internos, homogeneizando entonces con un homogeneizador eléctrico. Después de la centrifugación a 6.100 g durante 30 minutos, se diluyeron 40 µl de cada sobrenadante con 200 µl de ácido fórmico al 0,2% en agua y se analizaron en las siguientes condiciones de HPLC/EM/EM:

40 HPLC: Shimadzu VP System
 Fase móvil: ácido fórmico al 0,2% en agua (A) y en metanol (B)
 Columna: 2 x 10 mm Peeke Scientific DuraGel G C₁₈ cartucho protector
 Volumen de inyección: 100 µl
 Gradiente: 5 - 95% de B en 2 minutos después de 0,75 minutos de lavado
 45 Caudal: 400 µl/min
 Espectrómetro de masas: Applied Biosystems/MDS SCIEX API 3000
 Interfaz: TurbolonSpray (ESI) a 400°C
 Modo de ionización: Ión positivo
 Iones Q1/Q3: 231,2/161,2 para Ibudilast (IBUDILAST)

50 RESULTADOS

Según se muestra en la Figura 1, la administración intraperitoneal de ibudilast rindió buenas concentraciones plasmáticas que disminuyeron desde la C_{máx} de una forma bifásica. El ibudilast se distribuyó bien en los tejidos periféricos (por ejemplo, músculo) y centrales (por ejemplo, cerebro y médula espinal). La concentración máxima (C_{máx}) en el plasma en los tejidos del SNC tejidos fue de ~1 µg/ml después de la administración i.p. de ~5 mg/kg de

ibudilast formulado según se ha descrito. La semivida de eliminación variaba entre 100 - 139 min en todos los compartimentos tisulares.

EJEMPLO 2

EFICACIA DE IBUDILAST EN UN MODELO DE RATA DE ABSTINENCIA DE MORFINA

5 Se realizó un estudio de aproximadamente una semana de duración para evaluar el potencial del cotratamiento con ibudilast para reducir la intensidad y la duración de las conductas por la abstinencia de morfina.

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

10 El ibudilast se obtuvo como un polvo puro en Sigma (St. Louis, MO) o en Haorui Pharma (Edison, NJ), y se preparó diariamente como una disolución para administración intraperitoneal (i.p.). Estudios previos de determinación del intervalo de tolerabilidad y eficacia en otros modelos neurológicos indicaban que el ibudilast era bien tolerado por vía intraperitoneal a unos niveles de dosis de hasta 15 mg/kg dos veces al día (bid) durante varios días. La eficacia del ibudilast tras su administración intraperitoneal era representativa de otras vías de administración sistémicas tales como el tratamiento oral. Se disolvió una cantidad apropiada de ibudilast en polietileno al 100% (PEG) 400 (Sigma) y después se diluyó hasta una concentración final de PEG400 al 35% en suero salino estéril (al 0,9% para inyección).

15 El ibudilast se administró a 2,5 mg/kg (0,9 ml/kg de 2,8 mg/ml en PEG/suero salino al 35%); o 7,5 mg/kg (2,7 ml/kg de 2,8 mg/ml en PEG/suero salino al 35%) cada mañana (típicamente a las 9 am) y tarde (típicamente a las 4 pm). La estabilidad y la concentración del fármaco se validaron mediante HPLC/EM/EM.

20 Se usaron ratas Sprague-Dawley macho adultos exentas de patógenos (280 - 350 g; Harlan Labs) en todos los experimentos. Las ratas se enlojaron en habitaciones con la temperatura (23 +/- 3°C) y la luz (12:12 luz:oscuridad; luces encendidas a las 0700 h) controladas, con alimento estándar para roedores y agua disponible *ad libitum*. La prueba de conducta se realizó durante el ciclo de luz. Se obtuvo la aprobación del Institutional Animal Care and Use Committee de la Universidad de Colorado para todos los procedimientos.

25 Esquema de tratamiento con morfina (mediante inyecciones subcutáneas) fue como sigue: Día 1: 5 mg/kg a las 1000 h, 5 mg/kg a las 1300 h, 5 mg/kg a las 1700 h; Día 2: 5 mg/kg a las 1000 h, 12,5 mg/kg a las 1700 h; Día 3: 15 mg/kg a las 1000 h; Día 4: 17,5 mg/kg a las 1000 h; Día 5: 5 mg/kg a las 1000 h, 17,5 mg/kg a las 1200 h.

30 Las ratas recibieron morfina según el esquema anterior, además de suero salino (n = 4), vehículo de PEG (n = 5), 2,5 mg/kg ("dosis baja") de ibudilast (n = 4), o 7,5 mg/kg ("dosis alta") de ibudilast (n = 5) según el siguiente esquema: los dos días antes de comenzar con la morfina: diariamente a las 1000 h y a las 1700 h; los Días 1 - 4 del régimen con morfina: diariamente a las 1000 h y a las 1700 h; el Día 5 del régimen con morfina: a las 1000 h y a las 1200 h. Las ratas recibieron entonces 5 mg/kg de naloxona a las 1245 h del Día 5, 45 minutos después de su última dosis de morfina y/o ibudilast, suero salino o vehículo.

35 Los signos de abstinencia medidos fueron: (1) posturas anormales (un animal empuja su abdomen y baja la mandíbula contra el suelo de la jaula); (2) exploración (un animal hace círculos alrededor de la jaula, dirigiendo su cabeza en varias direcciones y examinando a su alrededor); (3) saltar; (4) limpiar (acicalamiento); (5) ponerse de pie (un animal se pone en pie sobre sus patas traseras con las patas delanteras sin apoyar). La incidencia total de las cinco conductas estereotipadas en los 10 minutos de observación se puntuó según la siguiente escala: 0 = no mostró ninguna; 1 = 1 - 5 episodios de una conducta; 2 = 6 - 10 episodios de una conducta; 3 = 11 - 15 episodios de una conducta; 4 = 16 - 20 episodios de una conducta 5 = 21 o más episodios de una conducta.

40 Las puntuaciones de abstinencia fueron medidas por observadores con enmascaramiento en bloques de 10 minutos durante 60 minutos inmediatamente después de iniciar la abstinencia precipitada con naloxona. Las observaciones se agruparon en 1 - 10 minutos, 11 - 20 minutos, 21 - 30 minutos, 31 - 40 minutos, 41 - 50 minutos, 51 - 60 minutos para cada rata individual después de la administración de naloxona, proporcionando seis puntos temporales. La puntuación media (para cada punto temporal) de todos los animales dentro de un grupo experimental se denominó "puntuación de abstinencia total" en las Figuras 2A - 2D.

45 RESULTADOS

50 Las Figuras 2A - 2D demuestran que el tratamiento con ibudilast fue eficaz para reducir tanto la magnitud como la duración de las manifestaciones fisiológicas clásicas del síndrome de abstinencia de morfina precipitado por naloxona. Mientras que el vehículo de PEG no tuvo efecto sobre estas conductas, en comparación con los controles de suero salino (Figura 2A), el ibudilast reveló una reducción dependiente de la dosis de estas conductas (Figuras 2B - 2D). Aunque la dosis baja de ibudilast (2,5 mg/kg) no tuvo efecto en comparación con los controles de suero salino (Figura 2C), la dosis alta de ibudilast (7,5 mg/kg) atenuó notablemente los signos conductuales de la abstinencia (Figura 2B; presentado como gráfico de barras en la Figura 2D).

EJEMPLO 3

SUPRESIÓN POR PARTE DEL IBUDILAST DE LA LIBERACIÓN DE DOPAMINA EN EL *NUCLEUS ACCUMBENS*

55 PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

60 Se cree que la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* media en la "recompensa" asociada con las drogas de abuso. El ibudilast suprimió la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens*, medido mediante microdiálisis *in vivo*. Se coadministró ibudilast sistémico (7,5 mg/kg b.i.d.) con morfina sistémica en ratas (6 ratas/grupo) a lo largo de 5 días, usando el régimen de morfina descrito en el Ejemplo 1. En la mañana del día 6, las ratas recibieron ibudilast una hora antes del inicio de la toma de muestras de la línea de base. Después de 3 muestras de la línea de

base (20 minutos de intervalo entre muestras), se administró morfina a todas las ratas. Las muestras para diálisis se recogieron a intervalos de 20 minutos durante 180 minutos. Para ensayar la conducta de abstinencia y la reversión de la dopamina inducida por la morfina, a todas las ratas se les administró el antagonista de opioides naloxona después de completar el tiempo de muestreo de 60 minutos.

5 RESULTADOS

10 Según se muestra en la Figura 3, las ratas tratadas con ibudilast mostraron unos indicadores o mediadores de "recompensa" significativamente suprimidos, según se evidencia por la supresión de la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* en respuesta a la morfina. El ibudilast no disminuyó los niveles basales de dopamina. El antagonista de opioides naloxona reversionó la liberación de dopamina inducida por la morfina, lo que demuestra que la liberación de dopamina era debida de hecho a los efectos de la morfina. Las ratas a las que se les coadministró repetidamente ibudilast y morfina mostraron una supresión de los signos de abstinencia conductuales inducidos por naloxona, en comparación con las ratas a las que se les administró repetidamente PEG-vehículo salino y morfina (véase la Figura 4).

CONCLUSIÓN

15 Los resultados tanto de los niveles de dopamina de la microdiálisis cerebral como de las respuestas conductuales de abstinencia a opiáceos concomitantes indican que el tratamiento con ibudilast de las ratas redujo significativamente un mediador neuroquímico (dopamina) de recompensa o las manifestaciones trascendentes y conductuales de la dependencia a opiáceos. Dichos resultados implican que el ibudilast será útil para el tratamiento de múltiples formas de dependencia.

20 EJEMPLO 4

EL IBUDILAST REDUCE EL DESARROLLO DE DEPENDENCIA DE MORFINA Y LA ACTIVACIÓN DE LAS CÉLULAS GLIALES CENTRALES

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

25 Las ratas (n = 10/grupo) recibieron morfina según el esquema descrito anteriormente en el Ejemplo 2, además de disolución salina, vehículo de PEG, 2,5 mg/kg ("dosis baja") de ibudilast o 7,5 mg/kg ("dosis alta") de ibudilast según el siguiente esquema: los dos días antes del inicio de la morfina: diariamente a las 1000 h y a las 1700 h; los Días 1 - 4 del régimen con morfina: diariamente a las 1000 h y a las 1700 h; el Día 5 del régimen con morfina: a las 1000 h y a las 1200 h. Las ratas recibieron entonces 5 mg/kg de naloxona a las 1245 h del Día 5, 45 minutos después de su última dosis de morfina y/o ibudilast, suero salino o vehículo.

30 Después de puntuar las conductas de abstinencia, los animales recibieron una inyección intraperitoneal de 0,8 ml de pentobarbital sódico de 50 mg/ml, y una vez anestesiados, los animales fueron perfundidos transcárdicamente. La mitad de cada grupo de tratamiento fue perfundido con suero salino y la mitad con paraformaldehído al 4%. Se recogieron las médulas espinales y los cerebros (en perfusión salina para la cuantificación de proteínas y de ARNm y en perfusión de paraformaldehído para inmunohistoquímica). Las muestras recogidas de los animales perfundidos con suero salino se congelaron instantáneamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C. Las muestras en perfusión de paraformaldehído se almacenaron en paraformaldehído al 4% durante 48 horas y después se transfirieron a sacarosa al 30% (azida al 0,1%) hasta la disección del tejido.

35 Se evaluó la inmunorreactividad para OX-42 (anticuerpo que reconoce los receptores de complemento de tipo 3 (por ejemplo, CD11b) y/o la proteína ácida fibrilar glial (GFAP), y los marcadores de activación microglial y de astrocitos, respectivamente. Las secciones (20 µm) se trataron con H₂O₂ al 0,3% en disolución salina tamponada con Tris (TBS) durante 20 minutos a temperatura ambiente para suprimir la actividad de la peroxidasa endógena. Entonces las secciones se incubaron durante una noche a 4°C en anticuerpo monoclonal de ratón anti-rata OX-42 (1:100; Pharmingen, San Diego, CA) o en anticuerpo monoclonal de ratón anti-rata GFAP (1:200; Chemicon, Temecula, CA) en TBS con un 2% de suero de cabra normal y un 0,5% de Triton-X-100. Posteriormente, las secciones se incubaron con los anticuerpos biotinilados secundarios apropiados (1:400; Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) durante 2 horas a temperatura ambiente, se incubaron en una disolución de complejo de avidina-biotina (ABC; 1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA) durante 2 horas a temperatura ambiente, seguido de reacción con tetraclorhidrato de 3,3'-diaminobencidina a 0,5 mg/ml (DAB; Sigma). Finalmente, las secciones se secaron, se deshidrataron y se cubrieron con Permout. La tinción se evaluó mediante microscopía óptica. Subsiguientemente se evaluó la densitometría de la tinción inmunohistoquímica usando un programa informático (NIH image).

40 La amplificación del ADNc se realizó usando el kit de PCR QUANTITECT SYBR GREEN (Qiagen, Valencia, CA) en placas de PCR de 96 pocillos ICYCLER IQ (Bio-Rad, Hercules, CA) con un sistema de detección de PCR en tiempo real de color único MYIQ (Bio-Rad). La mezcla de reacción (26 µl) estaba formada por 1 x de mezcla máster para PCR QUANTITECT SYBR GREEN (que contiene el pigmento fluorescente SYBR verde I, MgCl₂ 2,5 mM, una mezcla de dNTP y polimerasa de ADN Taq HOTSTART), fluoresceína 10 nM, 500 nM de cada cebador directo e inverso, 25 ng de ADNc y H₂O exenta de nucleasa. Las reacciones se realizaron por triplicado (n = 3 - 6 animales/grupo). Las condiciones de reacción fueron 15 minutos iniciales a 95°C, seguido de 40 ciclos de 15 segundos a 94°C, 30 segundos a 55 - 60°C y 30 segundos a 72°C. Se realizaron análisis de las curvas de fusión para valorar la uniformidad de la formación de producto, la formación del dímero de cebadores y la amplificación de productos no específicos. La linealidad y la eficacia de la amplificación mediante PCR se evaluaron usando curvas estándar generadas con cantidades crecientes de ADNc. Se monitorizó la fluorescencia del SYBR verde 1 (formación del producto de la PCR) en tiempo real usando el sistema de detección de PCR en tiempo real de color único MYIQ (Bio-Rad). El umbral de detección para el producto de la PCR se estableció en la fase logarítmica lineal de la amplificación y se determinó para cada reacción el ciclo umbral (CT, el número de ciclos hasta alcanzar el umbral de detección). Los niveles de los ARNm objetivo se cuantificaron relativamente con respecto al nivel del gen constitutivo de la gliceraldehído-3-fosfato-deshidrogenasa (GAPDH) usando

el método comparativo CT (Δ CT) (Livak y Schraittgen, 2001). La expresión del gen constitutivo no se vio significativamente alterada por el tratamiento experimental.

RESULTADOS

A. Cambios en el peso

5 Los animales tratados con ibudilast mostraron una reducida pérdida de peso en comparación con los animales tratados con vehículo durante los primeros 2 días de tratamiento ($9,3 \pm 6,3$ g para los animales tratados con $7,5$ mg/kg de ibudilast; $10,4 \pm 5,6$ g para los animales tratados con $2,5$ mg/kg de ibudilast; y $1 \pm 4,4$ g para los animales tratados con vehículo). Por lo tanto, se normalizaron los datos para los pesos en los animales que comenzaron el tratamiento con morfina por la mañana (eliminando así la pérdida de peso inducida por ibudilast durante los primeros 2 días). En el día 7, la pérdida de peso inducida por morfina era de $13,3 \pm 7,1$ g en los animales tratados con $7,5$ mg/kg de ibudilast, de $16,6 \pm 5,7$ g en los animales tratados con $2,5$ mg/kg de ibudilast, y $18,2 \pm 6,6$ g en los animales tratados con vehículo. La pérdida de peso corporal es un marcador clásico y objetivo de la abstinencia en modelos de opiáceos en rata, y la atenuación por la elevada dosis de ibudilast apoya el beneficio fisiológico durante la abstinencia de opiáceos.

B. Conductas de abstinencia

15 Según se muestra en la Figura 5, el tratamiento con ibudilast a las dosis de $2,5$ mg/kg y $7,5$ mg/kg dio como resultado una drástica reducción de las conductas de abstinencia precipitadas por naloxona durante un periodo de observación de 60 minutos. Sobre la base de una conducta individual, el tratamiento con ibudilast dio como resultado una reducción en todos los comportamientos excepto el de ponerse en pie, la exploración y las sacudidas del perro mojado, mientras que no se observó ningún cambio en los animales tratados con vehículo. Los datos se presentan en la
20 Figura 5 como la suma de las conductas de abstinencia totales observadas durante cada bloque de diez minutos para todos los animales del estudio ($n = 10$ /grupo de tratamiento).

C. Inmunohistoquímica cerebral

25 Los análisis inmunohistoquímicos se realizaron sobre muestras cerebrales recogidas de ratas tras la perfusión con paraformaldehído. Se investigaron el marcador de la activación microglial CD11b y de los astrocitos GFAP. Como puede observarse en la Figura 6, la administración crónica de morfina provocó una visible regulación por incremento del marcador de activación de la microglia CD11b. El tratamiento con ibudilast redujo drásticamente el aumento del marcador CD11b. El análisis por densitometría (Figura 7) reveló que el ibudilast causó una reducción significativa en el marcador de la activación microglial CD11b en 2 regiones cerebrales, el gris periacueductal y el homólogo cerebral del asta espinal dorsal, el núcleo trigeminal.

D. Análisis del ARNm de los núcleos cerebrales

30 Se cuantificó el ARNm de la interleucina-1 procedente de muestras de tejido cerebral. La morfina provocó un aumento drástico en el ARNm de la interleucina-1 en la región gris periacueductal dorsal pero no en la ventral (Figura 8). El ibudilast bloqueó completamente el incremento inducido por la morfina en el ARNm de la interleucina-1 en la región gris periacueductal dorsal.

35 CONCLUSIÓN

La administración de ibudilast durante el tratamiento con morfina da como resultado una reducción significativa en la activación de las células gliales y en la producción de citocinas proinflamatorias en el cerebro de los animales tratados. Tras la abstinencia precipitada por naloxona, los animales que recibían ibudilast mostraron unas respuestas conductuales significativamente reducidas, lo que indicaba que el tratamiento con ibudilast atenúa la neuroinflamación y los síntomas conductuales asociados con el síndrome de abstinencia de opiáceos.

EJEMPLO 5

EL IBUDILAST REVIERTE LA DEPENDENCIA DE MORFINA Y LA ABSTINENCIA ESPONTÁNEA DE OPIÁCEOS

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

45 Se usaron ratas Sprague-Dawley macho adultos exentas de patógenos ($350 - 375$ g en el momento de la llegada; Harlan Labs, Madiuson, WI) en todos los experimentos. Las ratas se en alojaron en habitaciones con la temperatura ($23 \pm 3^\circ\text{C}$) y la luz (12:12 luz:oscuridad; luces encendidas a las 0700 h) controladas, con alimento estándar para roedores y agua disponible *ad libitum*. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee de la Universidad de Colorado en Boulder. A su llegada, las ratas Sprague-Dawley macho ($300 - 400$ g) se alojaron individualmente y se dejaron aclimatar a la sala de telemetría de la colonia de animales durante una semana. Se realizaron sesiones de 5×90 minutos de manipulación por parte de los investigadores durante la siguiente semana.

55 Las ratas se anestesiaron con isoflurano y se les implantaron emisores para medir la temperatura del núcleo corporal (MiniMitter, Sun River, OR) en la cavidad peritoneal. El movimiento motor macroscópico fue evaluado mediante telemetría usando los mismos emisores usados para registrar la temperatura del núcleo corporal. El emisor tenía que moverse para contar la actividad; por lo tanto, los movimientos estacionarios tales como el acicalado no contaban. Se midieron los recuentos de actividad y la temperatura del núcleo corporal cada minuto y se calculó el movimiento medio durante 120 minutos (homogeneizando así los datos). El registro de los datos de telemetría se produjo a lo largo de todo el experimento. Los periodos de tiempo en los que los experimentadores entraron en la sala de alojamiento fueron eliminados de los análisis, ya que producían un aumento de la actividad, y por lo tanto un error. En el momento de
60 implantar la telemetría, a los animales se les implantaron 2 minibombas osmóticas lumbares subcutáneas 2ML2 (Alzet Cupertino, CA), que bombeaban cada una aproximadamente $5 \mu\text{l}$ por hora durante 14 días (por lo tanto, un total

combinado de 10 µl por hora). Una bomba tenía una longitud de tubo de guía de PE60 precargada con suero salino para retrasar la administración de morfina durante 2 días. Por lo tanto, las bombas administraban 6,25 mg de morfina (o de suero salino) por día en los días 1 y 2, después 12,5 mg por día de ahí en adelante. En el día 12, los animales comenzaron un régimen de 7 días con ibudilast dos veces al día (7,5 mg/kg o 2,5 mg/kg en PEG al 35% en un volumen de dosis de suero salino de 2,5 ml/kg) o en vehículo (PEG el 35% en suero salino) (completando con la dosis final en la tarde del día 18). La inyección matutina se producía entre las 8:45 AM y las 9:15 AM, con la inyección de por la tarde entre las 4:45 PM y las 5:15 PM. En el día 14, se retiraron las bombas para precipitar una abstinencia espontánea de opioides (en los animales que recibían morfina). Se registraron los pesos corporales antes de cada sesión de dosis para permitir un cálculo preciso de la dosis y para seguir la pérdida de peso inducida por los opioides (también se produjo en los días en los que no se realizó dosificación).

RESULTADOS

El ibudilast protegió a los animales de la pérdida de peso inducida por la abstinencia espontánea de opioides. Según se muestra en la Figura 9, sólo se observó una tendencia hacia un aumento de peso en la dosis más baja ibudilast, pero con la dosis más alta, el ibudilast atenuó sustancialmente la pérdida de peso. El criterio de valoración de la atenuación de la pérdida de peso se considera un objetivo de medición importante de la abstinencia reducida en ratas.

EJEMPLO 6

MICRODIÁLISIS DE LA DOPAMINA EN EL *NUCLEUS ACCUMBENS* DESPUÉS DE 5 DÍAS DE TRATAMIENTO CON MORFINA E IBUDILAST

PROCEDIMIENTOS EXPERIMENTALES

Se usaron ratas Sprague-Dawley macho adultos exentas de patógenos (300 - 325 g en el momento de la llegada; Harlan Labs, Madison, WI) en todos los experimentos. Las ratas se alojaron en habitaciones con la temperatura (23 +/- 3°C) y la luz (12:12 luz:oscuridad; luces encendidas a las 0700 h) controladas, con alimento estándar para roedores y agua disponible *ad libitum*. Todos los procedimientos fueron aprobados por el Institutional Animal Care and Use Committee de la Universidad de Colorado en Boulder. A su llegada, las ratas Sprague-Dawley macho (300 - 400 g) se alojaron por parejas y se dejaron aclimatar a la colonia de animales durante una semana. Se realizaron sesiones de 5 x 90 minutos de manipulación por parte de los investigadores, y la aclimatación de los animales al entorno de microdiálisis se realizó durante la siguiente semana.

La implantación de la cánula de guía para la microdiálisis se realizó bajo anestesia con halotano. Se dirigieron 12 cánulas de guía CMA (CMA Microdialysis) al *nucleus accumbens* derecho o izquierdo (AP = +1,7, LM = ± 0,8, DV = - 6,0) de una forma compensada. Las coordenadas eran de bregma usando el atlas de Paxinos y Watson (1998). Las cánulas de guía y un tornillo de fijación (CMA Microdialysis) se anclaron al cráneo con tres tornillos de joyería y cemento dental. Las ratas se alojaron individualmente después de la cirugía y se dejaron recuperar durante una semana.

Entonces los animales comenzaron un régimen de dosificación de 7 días (grupos de 6 animales cada vez, n = 10 por grupo de tratamiento). A lo largo de los 7 días los animales recibieron dos veces al día inyecciones intraperitoneales de ibudilast (7,5 mg/kg o 2,5 mg/kg en PEG al 35% en un volumen de dosis de suero salino de 2,5 ml/kg) o de vehículo (PEG al 35% en suero salino). La inyección matutina se producía entre las 8:45 AM y las 9:15 AM, con la inyección de por la tarde entre las 4:45 PM y las 5:15 PM. En el día 3 los animales comenzaron un régimen de dependencia de 5 días de morfina o de vehículo (suero salino) (inyecciones subcutáneas de 1 ml/kg). Cuando se administra morfina por la mañana o por la tarde, se produjo 30 minutos después de la inyección de ibudilast. El régimen de dependencia consistió en Día 3: dosis AM de 5 mg/kg, dosis por la tarde de 5 mg/kg, dosis PM de 5 mg/kg; Día 4: dosis AM de 7,5 mg/kg, dosis PM de 12,5 mg/kg; Día 5 dosis AM de 15 mg/kg; Día 6 dosis AM de 17,5 mg/kg; y Día 7 dosis AM de 22,5 mg/kg. Se registraron los pesos corporales antes de cada sesión de dosificación para permitir un cálculo preciso de la dosis y para seguir la pérdida de peso inducida por el opiáceo.

En la tarde anterior a la microdiálisis (día 6 tras la administración de morfina y de ibudilast) las ratas fueron transferidas a la sala de diálisis que estaba con el mismo ciclo de luz-oscuridad que en la sala de la colonia. Se insertaron las sondas de microdiálisis (CMA 12, PM de corte 20.000 Da; membrana activa de 2 mm) en las cánulas de guía, y las ratas se colocaron por separado en cuencos de infusión de Plexiglas con alimento y agua disponibles *ad libitum*. Se perfundió una disolución de Ringer (NaCl 147 mM, CaCl 2,97 mM KCl 4,02 mM; Baxter) a través de las sondas usando una bomba de infusión CMA a un caudal de 0,2 µl/min durante una noche. El caudal se incrementó hasta 1,5 µl/min la mañana siguiente, y después de un periodo de equilibrado de 1 hora, se administró la dosis final de morfina y comenzó la recogida de muestras, y los dializados se recogieron manualmente cada 20 minutos e inmediatamente se colocaron a -80°C hasta su análisis. En un conjunto de animales, la abstinencia de opioides se precipitó con 10 mg/kg de naloxona subcutánea (volumen de la dosis de 1 ml/mg) 60 minutos después de la administración de morfina. Los tubos de recogida se precargaron con 3 µl de EDTA al 0,02% (antioxidante) en etanol al 2%. Después de recoger tres muestras de la línea de base, se administró la morfina o el vehículo de la misma forma a la descrita anteriormente. Los dializados se analizaron mediante HPLC en las 2 semanas de su recogida.

La dopamina de los dializadores se determinó usando un detector ESA 5600A COULARRAY con una celda analítica ESA 5014B y una celda protectora ESA 5020 conectada a una columna ESA HR80 (C18, 3 µm, 80 x 3 mm) que se mantuvo a 30°C. La fase móvil era dihidrogenofosfato sódico monohidratado 150 mM, ácido cítrico monohidratado 4,76 mM, dodecil sulfato sódico 3 mM, EDTA 50 µM, metanol al 10% y acetonitrilo al 15%, pH = 5,6 con hidróxido sódico. Los potenciales se establecieron a -75 y +220 mV, y la celda protectora se estableció a +250 mV. Las inyecciones se realizaron con un automuestreador ESA 542 usando un volumen de inyección de 27 µl. Las comparaciones cuantitativas se elaboraron con estándares externos (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) que se pasaron cada día.

Para verificar la ubicación de la sonda, las ratas se sacrificaron con 65 mg/kg de pentobarbital sódico ip. Los cerebros se extrajeron, se congelaron en isopentano helado y se seccionaron criostáticamente (40 μ m) a -20°C. Las secciones se montaron en portaobjetos tratados con gelatina, se tiñeron con violeta de cresilo y se cubrieron. Sólo las ratas con las sondas ubicadas dentro del *nucleus accumbens* fueron incluidas en el análisis.

5 RESULTADOS

10 El tratamiento con ibudilast dio como resultado una reducción drástica del aumento de dopamina inducido por morfina en el *nucleus accumbens* en animales dependientes de morfina durante la administración de morfina y durante la abstinencia de opioides precipitada por naloxona o la abstinencia de opioides espontánea (Figuras 10 y 11). La Figura 10 muestra los niveles de dopamina en el *nucleus accumbens* reducidos por ibudilast en animales dependientes de morfina durante la abstinencia de opioides precipitada por naloxona (se administraron subcutáneamente 10 mg/kg de naloxona durante 60 minutos) en animales tratados con 7,5 mg/kg de ibudilast. La Figura 11 muestra que el ibudilast también redujo los niveles de dopamina en el *nucleus accumbens* de animales dependientes de morfina tras la administración de morfina (en el momento 0) durante la abstinencia de opioides espontánea en animales tratados con ibudilast (7,5 mg/kg) o con una combinación de ibudilast y morfina.

15 CONCLUSIONES

20 El tratamiento con ibudilast demostró reducir significativamente el aumento en los niveles de dopamina observado en el *nucleus accumbens* cerebral tras el tratamiento con morfina en un modelo de dependencia de morfina en rata. Dado que las drogas de abuso provocan un aumento de la dopamina en el *nucleus accumbens* (y se cree que este aumento es lo que media en la "recompensa" asociada a dichas drogas), los resultados implican que la terapia con ibudilast puede reducir similarmente la dependencia y atenuar la abstinencia de cualquier alteración adictiva. Por lo tanto, el tratamiento con ibudilast está indicado no sólo en los síndromes asociados con opiáceos, sino también para otras clases de drogas, tales como psicoestimulantes (cocaína, anfetamina, metanfetamina), cannabinoides y alcohol. Adicionalmente, el tratamiento también podría extenderse para atenuar potencialmente "adicciones conductuales" tales como la adicción al juego y a la comida.

25

REIVINDICACIONES

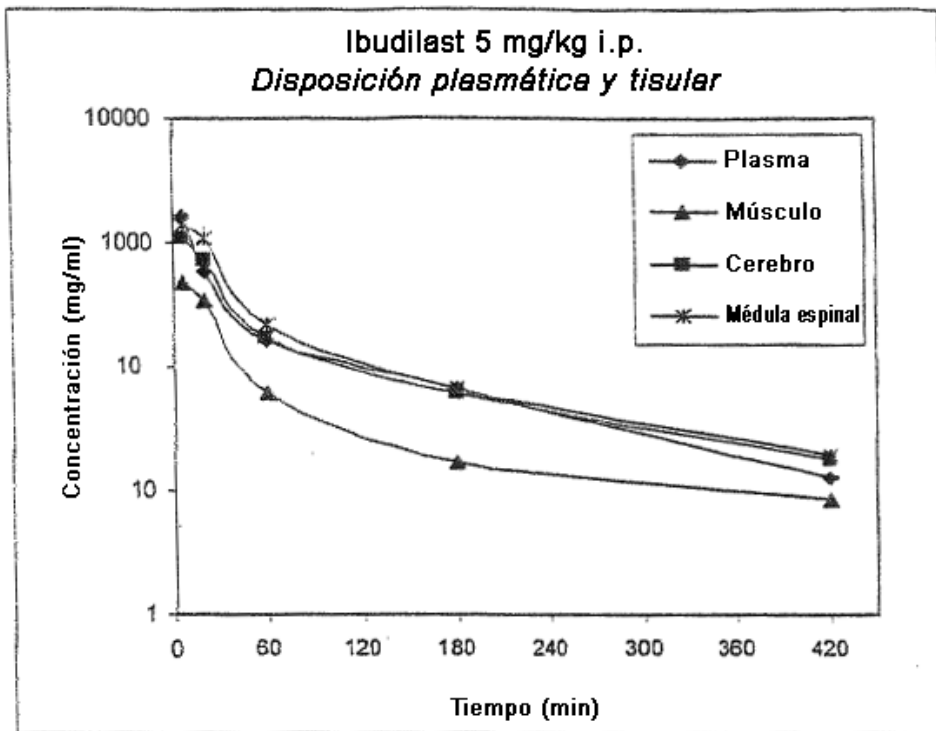
- 5 1. Ibudilast para su uso en el tratamiento de una drogadicción en un sujeto mediante la supresión de la liberación de dopamina en el *nucleus accumbens* de dicho sujeto, atenuando o aboliendo así el uso de drogas motivado por la recompensa y la conducta compulsiva asociada con las adicciones.
- 10 2. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1 en el que la drogadicción se elige del grupo que consiste en una adicción a opioides, una adicción a cocaína, una adicción a anfetamina, una adicción a metanfetamina, una adicción a cannabinoides, una adicción al alcohol y una adicción a la nicotina.
- 15 3. El ibudilast para su uso según la reivindicación 2, en el que la drogadicción es una adicción a opioides de uno o más opioides elegidos del grupo que consiste en morfina, metadona, fentanilo, alfentanilo, alfaprodina, anileridina, bectramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfano, levorfanol, metazocina, metopon, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverulento, opio granulado, opio en bruto, tintura de opio, oxycodona, oximorfona, petidina, fenazocina, piminodina, racemeterfano, racemorfano y tebafina.
- 20 4. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina el ansia asociada con la adicción a una o más drogas en un sujeto.
- 25 5. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina la tolerancia a una o más drogas en un sujeto.
- 30 6. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina la trascendencia incentiva de las pautas asociadas a la adicción a drogas o de conducta en un sujeto.
- 35 7. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina la pérdida de peso en un sujeto.
- 40 8. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina la activación de las células gliales en un sujeto.
- 45 9. El ibudilast para su uso según la reivindicación 8, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina la activación de los astrocitos o de la microglia en el sujeto.
- 50 10. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye la CD11b en el cerebro del sujeto.
- 55 11. El ibudilast para su uso según la reivindicación 10, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye la CD11b en las regiones periacueductal gris o núcleo trigeminal del cerebro del sujeto.
- 60 12. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el tratamiento de la drogadicción disminuye o elimina el aumento inducido por drogas en la expresión de la interleucina-1 en el sujeto.
- 65 13. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el sujeto es humano.
- 70 14. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el ibudilast usado para el tratamiento de la drogadicción es para su administración sistémica.
- 75 15. El ibudilast para su uso según la reivindicación 14, en el que el ibudilast es para su administración subcutánea, oral, intranasal o sublingual.
16. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el ibudilast usado para el tratamiento de la drogadicción es para su administración central.
17. El ibudilast para su uso según la reivindicación 16, en el que el ibudilast es para su administración intratecal.
18. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el ibudilast es para su administración en múltiples dosis terapéuticamente eficaces.
19. El ibudilast para su uso según la reivindicación 18, en el que el ibudilast usado para el tratamiento de la drogadicción es para su administración como un régimen de dosificación diario.
20. El ibudilast para su uso según la reivindicación. 19, en el que el ibudilast es para su administración dos veces a día.
21. El ibudilast para su uso según la reivindicación 18, en el que el ibudilast es para su administración intermitente.
22. El ibudilast para su uso según la reivindicación 1, en el que el ibudilast usado para el tratamiento de la drogadicción se usa con uno o más agentes distintos al ibudilast.
23. El ibudilast para su uso según la reivindicación 22, en el que el uno o más agentes se eligen del grupo que consiste en analgésicos, AINEs, antieméticos, antidiarreicos, antagonistas alfa-2, benzodiazepinas, anticonvulsivantes, antidepressivos y terapéuticos para el insomnio.
24. El ibudilast para su uso según la reivindicación 23, en el que el uno o más agentes se eligen del grupo que

- 5
 25. Ibutilast para su uso en el tratamiento del síndrome de abstinencia de opioides.
- 10
 26. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25 en el que el ibutilast se usa para el tratamiento de seres humanos.
- 15
 27. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el síndrome de abstinencia de opioides está provocado por la reducción o el cese de la administración de un opioide en el sujeto.
- 20
 28. El ibutilast para su uso según la reivindicación 27, en el que el opioide se elige del grupo que consiste en morfina, metadona, fentanilo, alfentanilo, alfaprodina, anileridina, bectramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfano, levorfanol, metazocina, metopon, extractos de opio, extractos fluidos de opio, opio pulverulento, opio granulado, opio en bruto, tintura de opio, oxicodona, oximorfona, petidina, fenazocina, pimindina, racemetorfano, racemorfano y tebaina.
- 25
 29. El ibutilast para su uso según la reivindicación 28, en el que el opioide es morfina.
- 30
 30. El ibutilast para su uso según la reivindicación 28, en el que el opioide es fentanilo.
- 35
 31. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el síndrome de abstinencia de opioides está causado por la administración de un antagonista de opioides.
- 40
 32. El ibutilast para su uso según la reivindicación 31, en el que el antagonista de opioides es naloxona o naltrexona.
- 45
 33. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast para el tratamiento del síndrome de abstinencia de opioides es para su administración sistémica.
- 50
 34. El ibutilast para su uso según la reivindicación 33, en el que el ibutilast es para su administración intravenosa, subcutánea oral, intranasal o sublingual.
- 55
 35. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast para el tratamiento del síndrome de abstinencia de opioides es para su administración central.
- 60
 36. El ibutilast para su uso según la reivindicación 35, en el que el ibutilast es para su administración intratecal.
- 65
 37. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast es para su administración en múltiples dosis terapéuticamente eficaces.
- 70
 38. El ibutilast para su uso según la reivindicación 37, en el que el ibutilast para el tratamiento del síndrome de abstinencia de opioides es para un régimen de dosificación diario.
- 75
 39. El ibutilast para su uso según la reivindicación 37, en el que el ibutilast es para su administración dos veces al día.
40. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast es para su administración intermitente.
41. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast para el tratamiento del síndrome de abstinencia de opioides se usa junto con uno o más agentes distintos al ibutilast para el tratamiento de la abstinencia de opioides.
42. El ibutilast para su uso según la reivindicación 41, en el que el uno o más agentes se eligen del grupo que consiste en analgésicos, AINEs, antieméticos, antidiarreicos, antagonistas alfa-2 y benzodiazepinas.
43. El ibutilast para su uso según la reivindicación 42, en el que el uno o más agentes se eligen del grupo que consiste en naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina y diacepam.
44. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast disminuye o elimina la pérdida de peso en el sujeto.
45. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast disminuye o elimina la activación de las células gliales en el sujeto.
46. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast disminuye o elimina la activación de los astrocitos o de la microglia en el sujeto.
47. El ibutilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibutilast disminuye la CD11b en el cerebro del sujeto.
48. El ibutilast para su uso según la reivindicación 47, en el que el ibutilast disminuye la CD11b en las regiones

periacueductal gris o núcleo trigeminal del cerebro del sujeto.

49. El ibudilast para su uso según la reivindicación 25, en el que el ibudilast disminuye o elimina el aumento inducido por drogas en la expresión de la interleucina-1 en el sujeto.

5



Parámetros farmacocinéticos	Plasma	Músculo	Cerebro	Médula espinal
C _{máx} (ng/ml)	1645	472	1070	1397
t _{1/2} (min)	100	139	114	106
ABC _{inf} (ng*min/ml)	60,429	24,511	58,881	76,529
ABC % en plasma		40.6	97	~126

FIGURA 1

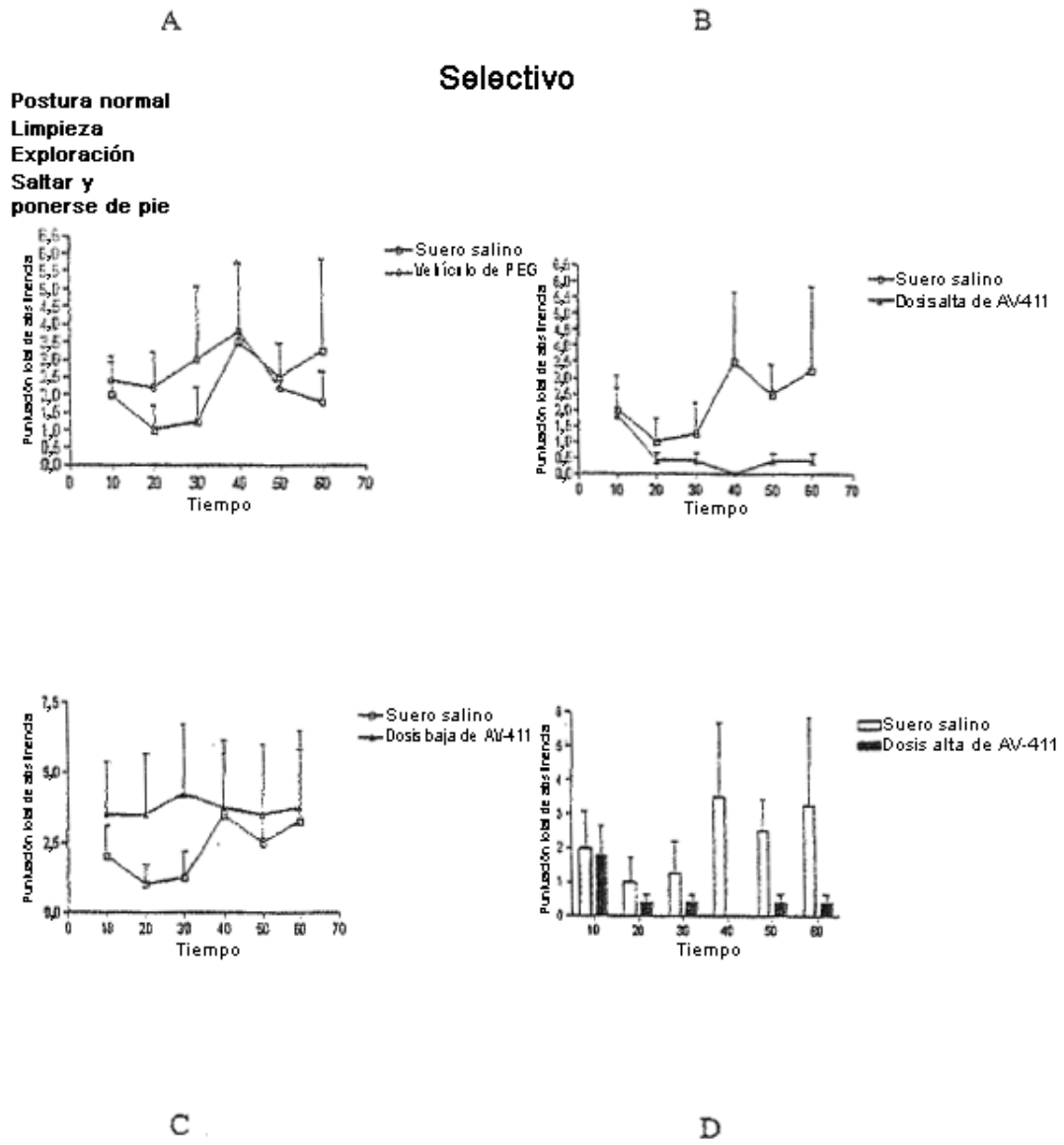


FIGURA 2

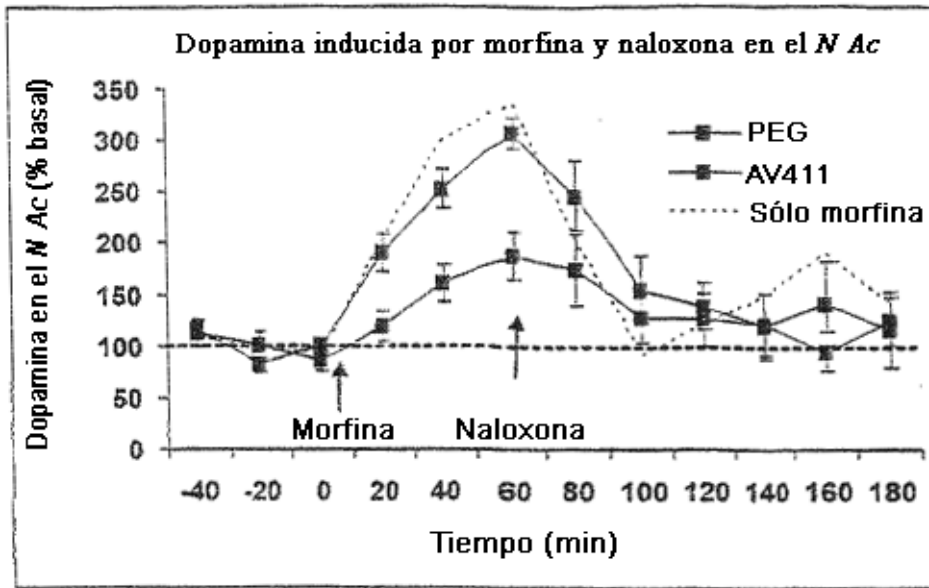


FIGURA 3

Puntuaciones de abstinencia en la microdiálisis de los animales

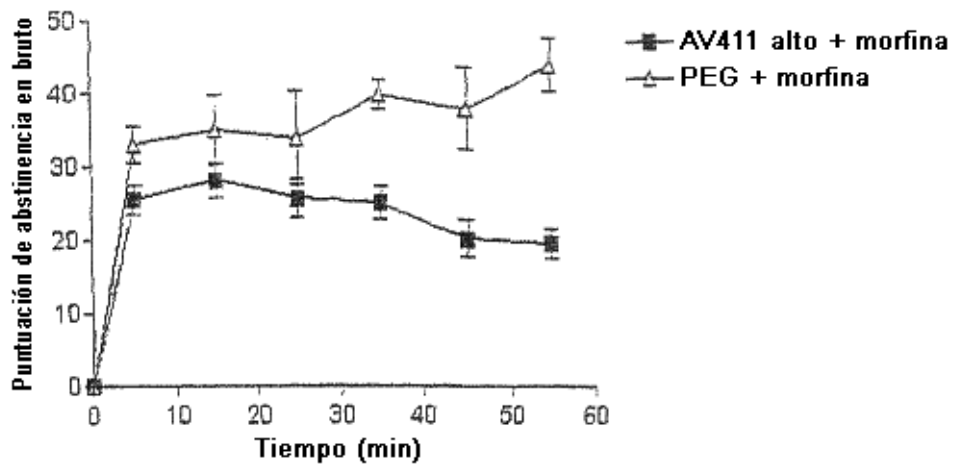


FIGURA 4

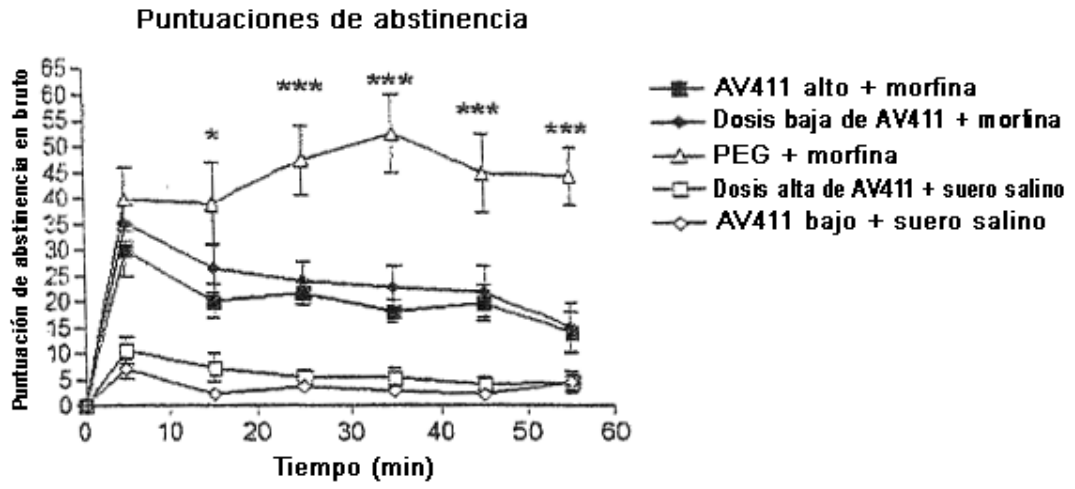


FIGURA 5

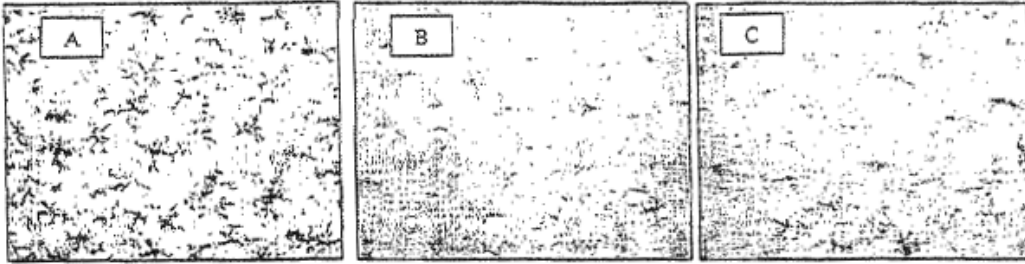


FIGURA 6

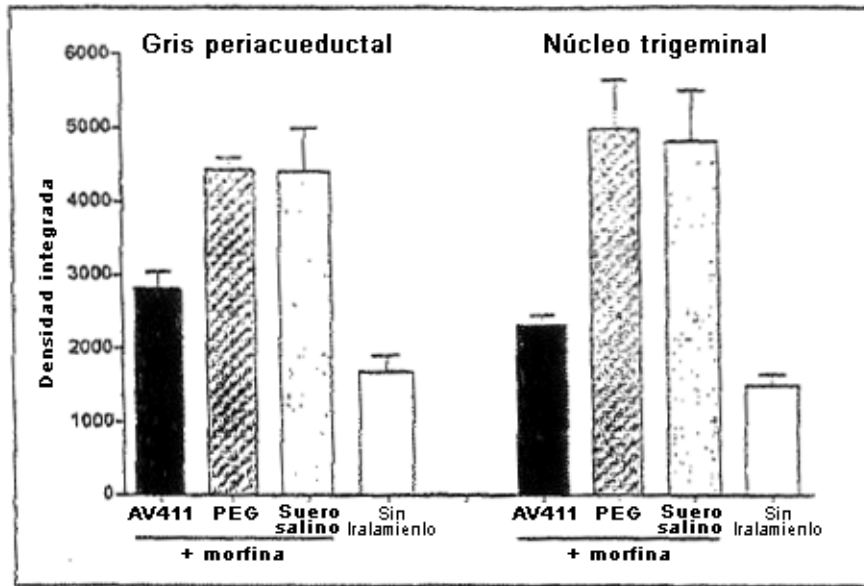


FIGURA 7

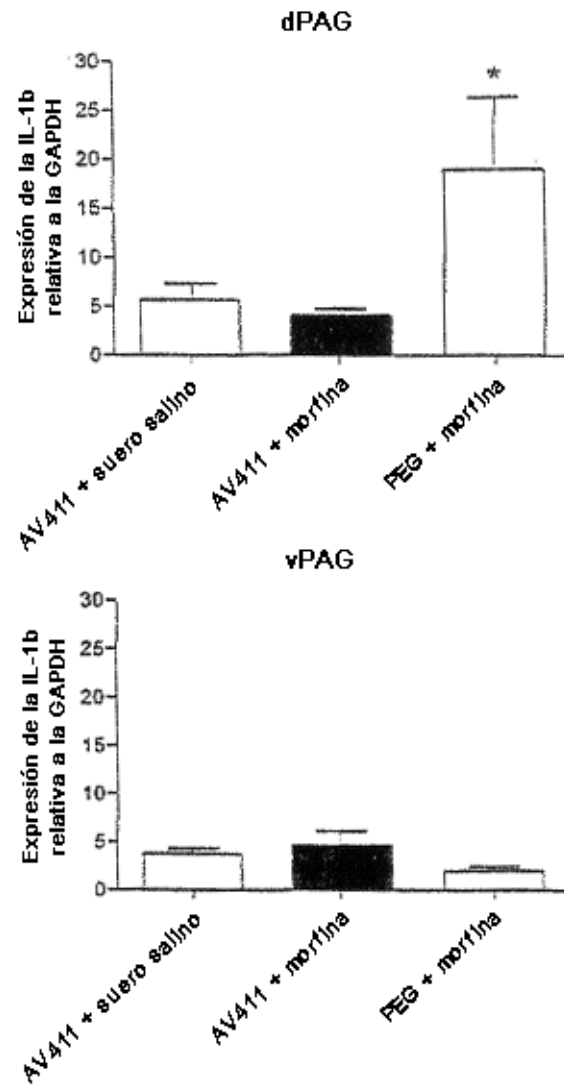


FIGURA 8

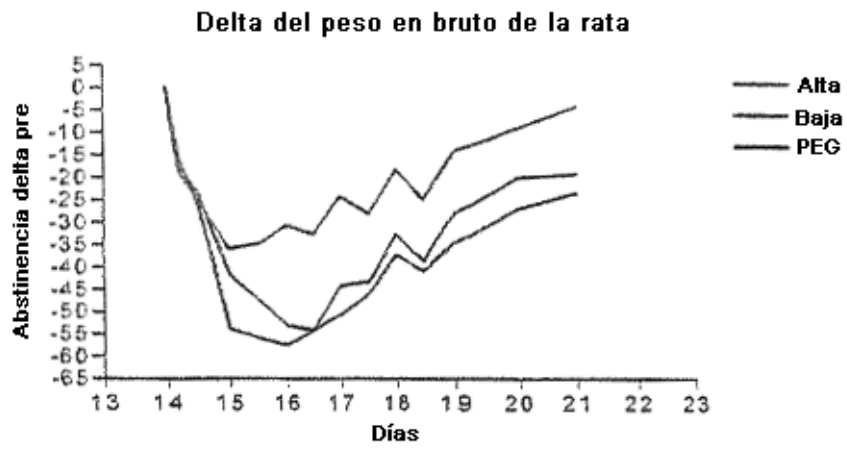


FIGURA 9

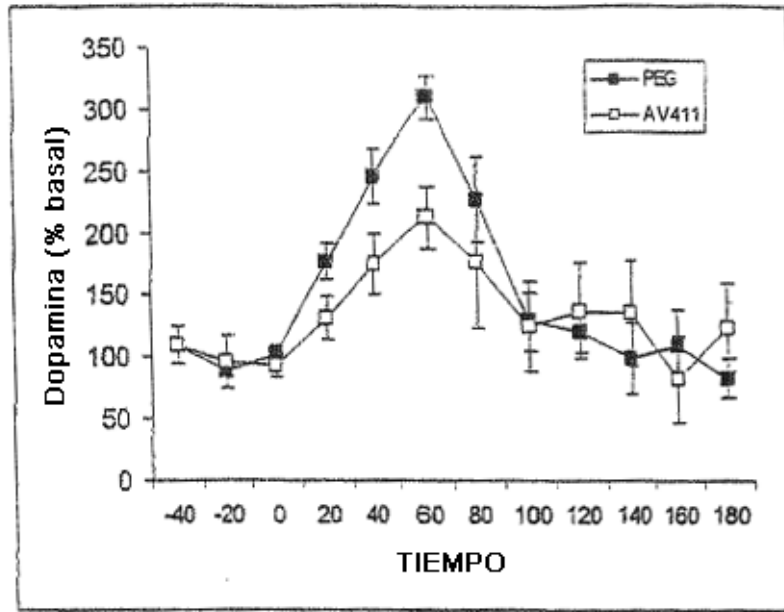


FIGURA 10

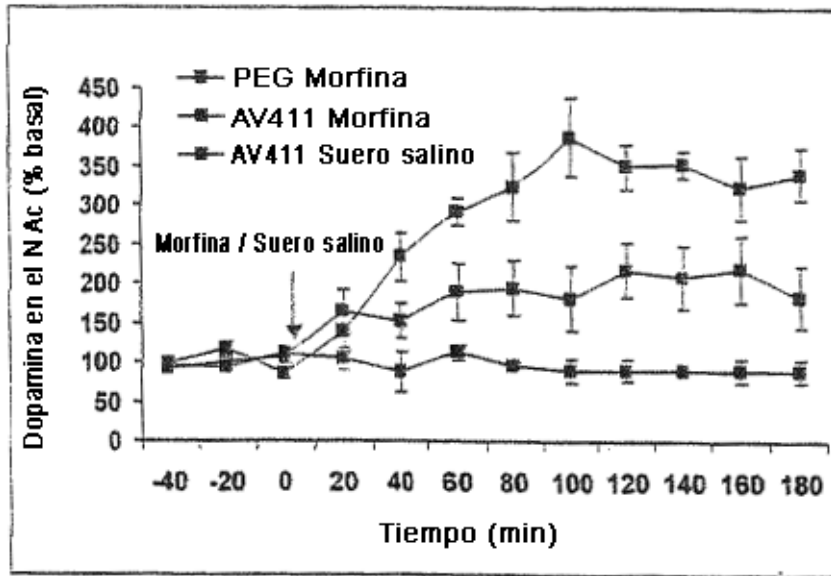


FIGURA 11