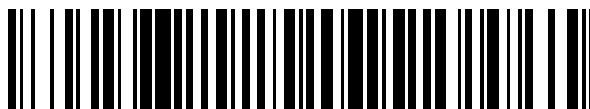


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 420 120**

51 Int. Cl.:

A61K 31/5513 (2006.01)

A61K 31/165 (2006.01)

A61K 31/196 (2006.01)

A61K 31/4525 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.09.2009** **E 09782881 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013** **EP 2344146**

54 Título: **Agentes anti-conexinas para su utilización como agentes moduladores del efecto terapéutico de moléculas psicotrópicas**

30 Prioridad:

10.09.2008 FR 0856090

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.08.2013

73 Titular/es:

**COMMISSARIAT À L'ÉNERGIE ATOMIQUE ET
AUX ÉNERGIES ALTERNATIVES (50.0%)
25, Rue Leblanc Bâtiment Le Ponant D
75015 Paris, FR y
BIO MODELING SYSTEMS OU BMSYSTEMS
(50.0%)**

72 Inventor/es:

**MOUTHON, FRANCK;
CHARVERIAT, MATHIEU;
DESLYS, JEAN-PHILIPPE y
IRIS, FRANÇOIS**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 420 120 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

Agentes anti-conexinas para su utilización como agentes moduladores del efecto terapéutico de moléculas psicotrópicas.

La presente invención se refiere a la mejora de los tratamientos terapéuticos neurológicos y neuropsíquicos que utilizan unas moléculas psicotrópicas. Más particularmente, la presente invención permite la modulación y/o la potenciación de los efectos de los fármacos psicotrópicos por ciertas moléculas, denominados agentes anti-conexinas en la presente memoria.

El desarrollo y la utilización de moléculas con fines terapéuticos que tiene como objetivo el sistema nervioso central representan un campo en plena expansión. Este desarrollo está, sin embargo, enfrentado a numerosas limitaciones:

- los efectos secundarios pueden aparecer a partir de la dosis terapéutica y disminuye por lo tanto los beneficios terapéuticos.
- la resistencia al tratamiento, la intolerancia al tratamiento, el fracaso terapéutico y los fenómenos de adicciones son otras tantas reacciones individuales a los medicamentos, particularmente limitadoras en el desarrollo y en la utilización en clínica de moléculas psicotrópicas.
- una sensación de los efectos terapéuticos descompensados con respecto al momento de la administración, fenómeno que está perfectamente documentado en el ámbito de tratamientos antidepresivos, constituye una fuente de incertidumbre considerable para adaptar la posología.

Por otra parte, entre las moléculas candidatas al tratamiento de patologías del sistema nervioso central, solo el 8% son validadas durante ensayos clínicos y son después comercializadas. Durante ensayos en fase preclínica, el 20% de las moléculas son rechazadas debido a resultados toxicológicos no compatibles con un tratamiento en el ser humano (Kola I, *Nat Rev Drug Discov.* agosto de 2004; 3(8):711-5). Estas moléculas podrían, sin embargo, presentar un efecto terapéutico si su acción se pudiera potenciar por una o varias moléculas.

En este contexto, es importante por lo tanto encontrar un medio para i) controlar lo mejor posible las limitaciones terapéuticas y los efectos secundarios, y ii) mejorar la eficacia de las moléculas destinadas a tratar las patologías del sistema nervioso central.

Diferentes estudios se han interesado ya por la modulación de los efectos secundarios de los tratamientos. Las pocas tentativas descritas, de manera extensa, se han centrado en las moléculas o péptidos que tienen como diana unos receptores:

- PKR1 en los fenómenos de nocicepción (Negri L, *The Journal of Neuroscience*, 21 de junio de 2006; 26(25):6716-27)),
- un antagonista no esteroideo de los receptores glucocorticoides en los casos de hipoglucemia extrema tras el tratamiento crónico por insulina (Kale A Y 2006, *Brain Research Bulletin* 15 de julio de 2006; 135 (1-2): 1-6)
- la trimegestrona, un agonista de los receptores progesterona que se opone en parte a los efectos indeseados de los tratamientos con estradiol sin comprometer su eficacia en el tratamiento de la osteoporosis (Winneker RC, *Steroids*. noviembre de 2003; 68(10-13):915-20),
- el diazepam, un agonista de los receptores GABAA, para atenuar los efectos adictivos de los opiáceos (Tejwani GA, *Brain Res.* 29 de junio de 1998; 797(2):305-12).

En definitiva, en el momento de la invención, no se había considerado ningún enfoque que pretenda resolver los problemas relacionados con la utilización de fármacos psicotrópicos para intervenir sobre un sistema global de regulación, sino más bien sobre ciertos receptores particulares.

Descripción de las figuras

La figura 1 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de la inyección sub-meníngea del ácido meclofenámico (MFA, en cuadrados negros) o del ácido 18- β -glicirretínico (Beta GA, en círculos blancos). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para la primera hora y para la segunda hora del registro.

La figura 2 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de la clozapina sola (0,2 mg/kg por vía intraperitoneal), del inhibidor de conexina solo (ácido meclofenámico, 80 ng/lg por inyección sub-meníngea), o de la asociación [clozapina e inhibidor de conexina]. La

abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis por transformación de Fourier. El análisis espectral está representado en media para 6 animales para la primera hora (arriba) y la segunda (abajo).

La figura 3 representa el análisis de la evolución minuto a minuto de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal de frecuencia media 8 Hz por EEG cuantitativa del efecto de la Clozapina sola (0,2 mg/kg por vía intra peritoneal), del inhibidor de conexina sola (Ácido Meclofenámico, 80 mg/kg por inyección sub-meníngea), o de la asociación 8 (Clozapina e inhibidor de conexina). La abscisa representa el tiempo en minutos y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT.

La figura 4 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto del inhibidor de conexina por inyección sub-meníngea (Ácido Meclofenámico, 80 ng/kg) o por inyección intraperitoneal (Ácido Meclofenámico, 2,45 mg/kg). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para 6 animales para la primera hora y para la segunda hora de registro.

La figura 5 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de diferentes dosis del inhibidor de conexina por inyección intraperitoneal (Ácido Meclofenámico, 2 mg/kg, 1 mg/kg, 0,5 mg/kg, 0,4 mg/kg). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para la primera hora y para la segunda hora de registro.

La figura 6 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de la Paroxetina (0,5 mg/kg por vía intraperitoneal) sola, del inhibidor de conexina (Ácido Meclofenámico 0,4 mg/kg por inyección intraperitoneal) solo, o de la asociación Paroxetina e inhibidor de conexina. La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 7 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto del Modafinilo (125 mg/kg y 250 mg/kg por vía intraperitoneal) solo, del inhibidor de conexina (ácido Meclofenámico 0,4 mg/kg por inyección intraperitoneal) sola, o de la asociación Modafinilo (125 mg/kg por vía intraperitoneal) e inhibidor de conexina. La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 8 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto del Diazepam (1 mg/kg por vía intraperitoneal) solo, o de la asociación del Diazepam (1 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 9 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de la Venlafaxine (0,16 mg/kg y 4 mg/kg por vía intraperitoneal) sola, o de la asociación de la Venlafaxine (0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 10 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto del Escitalopram (0,8 mg/kg y 4 mg/kg por vía intraperitoneal) solo, o de la asociación del Escitalopram (0,8 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas procedentes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 11 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto del Bupropion (0,16 mg/kg y 0,8 mg/kg por vía intraperitoneal) solo, o de la asociación del Bupropion (0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 12 representa el análisis espectral de la actividad eléctrica de la corteza prefrontal por EEG cuantitativa del efecto de la Sertraline (0,16 mg/kg y 0,8 mg/kg y 4 mg/kg por vía intraperitoneal) sola, o de la asociación de la

Sertraline (0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal). La abscisa representa las frecuencias analizadas y la ordenada representa las potencias relativas resultantes del análisis FFT. El análisis espectral está representado en media para los 6 animales para la primera hora y para la segunda hora.

La figura 13 es una representación esquemática del efecto EEG en "U" inversa de la Sertraline sola según la dosis administrada en las dos horas de registro (0,16 mg/kg, 0,8 mg/kg y 4 mg/kg por vía intraperitoneal), o de la asociación Sertraline (0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) con el inhibidor de conexina (ácido meclofenámico, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal).

Descripción de la invención

La comunicación intercelular es importante para el mantenimiento de la homeostasis tisular y orgánica. Para establecer esta comunicación, unas uniones incompletas unen el citoplasma de las células, que permiten el intercambio de iones (Ca^{2+} y K^{+}), de segundos mensajeros (AMPC, GMPc, IP3), de algunos metabolitos de pequeño tamaño (glucosa), y que aseguran una unión eléctrica y metabólica entre las células. Las uniones incompletas son unas uniones de permeabilidad selectiva, formadas por canales proteicos insertados en la membrana plásmica, y constituidos por hexámeros de conexinas (Meda P, *Médecine/Sciences* 1996; 12:909-920).

Las conexinas son unas proteínas integrales de la membrana plásmica, que son sintetizadas prácticamente por cada tipo celular, sea cual sea la posición de un organismo multicelular en la filogénesis del mundo animal. En los vertebrados, las células raras que no producen conexinas son las células musculares estriadas adultas, los espermatozoides y las células circulantes de la sangre. A diferencia de numerosas proteínas de membrana, las conexinas tienen una duración corta de vida media (entre 3 y 6 horas), no están glicosiladas y no tienen actividad enzimática. Hoy en día, por lo menos trece conexinas distintas han sido identificadas en los mamíferos; lo cual corresponde, en el ser humano, a 21 isoformas. En la práctica, diferentes tipos de conexinas pueden estar presentes en varios tejidos, y la mayoría de las células sintetizan varias conexinas (Meda P, *Médecine/Sciences* 1996; 12:909-920). Antes de alcanzar la membrana celular, las conexinas se ensamblan por grupos de seis moléculas para formar unas estructuras tubulares huecas denominadas conexones, que se reúnen con la membrana plásmica gracias a vesículas golgianas. Cuando se establece un contacto celular, los conexones de una célula se alinean unos tras otros con los de la célula vecina, estableciendo un canal hidrófilo continuo largo de 10 nm aproximadamente. Este canal de unión pone en comunicación directa el citoplasma de las dos células en contacto, más allá del espacio intercelular.

Así, la formación de dúplex de hexámeros entre dos membranas plásmicas adyacentes constituye la unión incompleta. El número de genes que codifican para diferentes isoformas de conexinas es de 21 en el ser humano y se describen diferentes combinaciones de monómeros de conexinas que entran en la composición de las uniones incompletas. La mitad de las conexinas identificadas está expresada en el cerebro, y más particularmente la conexina 36 (Cx36), que parece mayoritariamente expresada por las neuronas, dentro de una interfaz definida como la sinapsis eléctrica. Los ratones deficientes para la conexina 36 no presentan ningún acoplamiento interneuronas, lo cual contribuye a afirmar el papel preponderante de estas conexinas particulares en por lo menos un tipo de sinapsis eléctrica (Wellershaus K, *Exp Cell Res.* 2008).

Las sinapsis eléctricas no transmiten la información más rápidamente que las sinapsis químicas, pero presentan una característica particular, la de la reciprocidad: ni inhibitoras, ni excitadoras, sincronizan localmente el estado de varias células, y esto de manera bilateral. Como las uniones incompletas actúan como filtros de paso bajo, este proceso de normalización del estado de las células es tan eficaz que implica unos cambios a más o menos largo plazo. Los acoplamientos eléctricos entre neuronas, en virtud de sus características, desempeñarían un papel en los fenómenos de oscilaciones y de descargas rítmicas en la neocorteza y el hipocampo.

En definitiva, las conexinas están presentes de manera ubicua en las diferentes estructuras del cerebro y están implicadas localmente en fenómenos de oscilaciones de las actividades eléctricas.

Ahora bien, los presentes inventores han demostrado recientemente que las conexinas desempeñaban además un papel importante en la regulación global de la actividad eléctrica del cerebro. De manera sorprendente, cuando están presentes de manera fisiológica, estas proteínas tienen en efecto un papel desincronizador global de la actividad eléctrica del SNC, que amortigua y neutraliza potencialmente los fenómenos de aceleración. A la inversa, la inhibición de estas moléculas por medio de agentes denominados "anti-conexinas" permite sincronizar, y por lo tanto aumentar, la actividad electrofisiológica medida.

Como se conoce que el aumento de la actividad eléctrica del SNC, medida sobre un electroencefalograma (EEG), refleja, en ciertas condiciones, los beneficios terapéuticos de un fármaco psicotrópico (Galderisi S, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2002, 24, 85-89), los presentes inventores han tenido la idea de ensayar el efecto de la inhibición de las conexinas sobre el efecto terapéutico relacionado con la administración de fármacos psicotrópicos.

Sus numerosos resultados prueban sin ambigüedad que la modulación de la actividad eléctrica cerebral relacionada

con la administración de agentes anti-conexinas, permite obtener un beneficio de dosis de fármacos psicotrópicos a los que están asociados y disponer de un método de evaluación de este beneficio de dosis basado en esta modulación. La asociación de un agente anti-conexina con una molécula psicotrópica, por ejemplo un antidepresivo, permite por lo tanto i) aumentar la especificidad de acción, y los efectos terapéuticos de la molécula psicotrópica, y ii) disminuir las dosis activas y reducir así los efectos indirectos de estas moléculas psicotrópicas (efectos indeseables, escape, resistencia).

Según un primer aspecto, la presente invención propone un método de evaluación de la dosis equivalente eficaz de fármaco psicotrópico que podrá estar asociada al agente que bloquea las conexinas durante el tratamiento del paciente que sufre trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos. Esta asociación tiene como objetivo obtener el mismo efecto terapéutico que el del fármaco psicotrópico solo administrado a una dosis más fuerte, pero con menos efectos secundarios.

En el marco de la invención, se denomina "dosis equivalente eficaz" de fármaco psicotrópico la dosis de fármaco psicotrópico que, cuando se administra en combinación con el agente que bloquea las conexinas, induce un efecto fisiológico o una firma farmacológica similar o idéntica al de o a la del fármaco psicotrópico solo administrado a la dosis farmacológica activa.

Por otra parte, se designa por "dosis activa farmacológica" de fármaco psicotrópico la dosis de fármaco psicotrópico administrada clásicamente a los animales de laboratorio como la rata, el ratón, el conejo, etc. Dichas dosis se proporcionan por ejemplo en *Animal models in psychopharmacology*. Olivier B, Slangen J, Mos J, eds. Birkhauser Verlag, Basel; 1991. En el caso en el que no se conoce esta dosis, es posible determinar la dosis activa farmacológica de fármaco psicotrópico por transposición en el animal de las dosis activas farmacológicas prescritas clásicamente en el ser humano y que pueden ser consultadas en "Médicaments psychotropes: consommation et pratiques de prescription en France métropolitaine. I. Données nationales, 2000". Lecadet J, Vidal P, Baris B *et al.*; *Révue Médicale de l'Assurance Maladie* volumen 34 n° 2/abril-junio de 2003". Es posible asimismo determinar esta dosis activa farmacológica mediante unos ensayos experimentales, siendo la dosis activa farmacológica la dosis máxima de fármaco psicotrópico que se puede administrar a un animal sin que los efectos secundarios se vuelvan preponderantes con respecto al efecto terapéutico. En este caso, la dosis farmacológica activa puede ser determinada paso a paso administrando varias dosis de fármaco psicotrópico a dosis crecientes, y midiendo cada vez el efecto ejercido por dicho fármaco.

En el marco de la presente invención, un agente "que bloquea las conexinas" es una molécula química, una proteína, un fragmento de proteína, o un ácido nucleico (ARNi) capaz de inhibir la actividad funcional de las conexinas, de manera directa y/o indirecta, y más generalmente cualquier tipo de unión intercelular, y/o capaz de inhibir funcionalmente, de manera directa y/o indirecta, cualquier actividad celular que hace intervenir una proteína de tipo conexina. Dicho agente puede asimismo ser calificado de "molécula anti-conexina".

El método de evaluación de la dosis equivalente eficaz de fármaco psicotrópico se basa en la cuantificación de la potenciación del efecto del fármaco psicotrópico por el agente que bloquea las conexinas. Esta evaluación se realiza en varias etapas: una etapa de caracterización de los efectos propios del psicotrópico y una etapa de medición del beneficio de dosis del producto de combinación. La primera etapa consiste en determinar y cuantificar los efectos del fármaco psicotrópico solo a diferentes dosis (dosis farmacológica activa y dosis decrecientes a partir de la dosis farmacológica activa), y así disponer de firmas propias a la molécula psicotrópica -o firmas patrones- a diferentes dosis. La segunda etapa consiste en determinar la dosis de fármaco psicotrópico que, administrada en combinación con el agente que bloquea las conexinas, tiene la misma firma farmacológica que el fármaco psicotrópico sólo.

De manera ventajosa, la dosis de agente que bloquea las conexinas utilizada en asociación con el fármaco psicotrópico está determinada previamente mediante unos ensayos experimentales. Esta dosis corresponde en efecto a la dosis máxima de agente que bloquea las conexinas que puede ser administrada sin ejercer ningún efecto farmacológico significativo propio. Esta dosis puede ser ajustada durante la aplicación del método según la invención, para optimizar el efecto de la asociación.

El método de evaluación de la dosis equivalente eficaz de fármaco psicotrópico según la invención comprende las etapas siguientes:

- a) disponer de tantos grupos de animales como de condiciones experimentales a ensayar,
- b) administrar a un primer grupo de animales una dosis activa farmacológica de dicho fármaco psicotrópico, y a grupos sucesivos de animales unas dosis decrecientes a partir de dicha dosis activa farmacológica activa,
- c) caracterizar, en los animales de dichos grupos, el efecto ejercido por dicho fármaco psicotrópico a las diferentes dosis administradas,
- d) administrar, a nuevos grupos de animales, dicho producto de combinación que contiene dicho fármaco psicotrópico a las dosis utilizadas en b), y dicho agente que bloquea las conexinas,

e) caracterizar, en los animales de dichos grupos, el efecto ejercido por cada uno de dichos productos de combinación administrados en d),

5 f) determinar la dosis equivalente eficaz de fármaco psicotrópico, es decir la dosis de fármaco psicotrópico que, cuando se administra en combinación con el agente que bloquea las conexinas, ejerce el mismo efecto que el del fármaco psicotrópico solo administrado a dicha dosis activa farmacológica.

10 Este método de evaluación de la dosis equivalente eficaz de fármaco psicotrópico permite además evaluar el beneficio de dosis entre, por un lado, un producto de combinación que asocia dicho fármaco psicotrópico a la dosis equivalente eficaz y un agente que bloquea las conexinas y, por otro lado, el fármaco psicotrópico administrado a la dosis farmacológicamente activa.

15 El término "beneficio de dosis" designa, en la presente solicitud, la relación entre la dosis farmacológica del fármaco psicotrópico solo y la dosis equivalente eficaz del fármaco psicotrópico. En otras palabras, el beneficio de dosis explica en cuánto puede ser disminuida la dosis farmacológica de fármaco psicotrópico prescrito con vistas a su asociación con el agente anti-conexina. Esta disminución de la dosis de fármaco psicotrópico administrada (en asociación con las moléculas anti-conexinas) no tendrá consecuencias en términos de eficacia del tratamiento, pero conllevará una disminución de los efectos secundarios.

20 Así, el beneficio de dosis definido más arriba puede escribirse:

$$BD = \frac{\text{Dosis activa farmacológica del fármaco psicotrópico}}{\text{Dosis equivalente eficaz del fármaco psicotrópico}}$$

25 Se entiende que, para realizar el método de evaluación según la invención, dichos grupos de animales son de la misma especie. Por otra parte, cada grupo de animales recibe exclusivamente o bien una dosis de fármaco psicotrópico sólo, o bien un producto de combinación que contiene una cierta dosis de fármaco psicotrópico y un agente anti-conexina, con el fin de medir sólo, en los animales del mismo grupo, el efecto de dicho fármaco o de dicho producto de combinación solos. De manera preferida, dichos grupos de animales tienen la misma edad y son del mismo sexo. Estos animales son preferentemente animales de laboratorio, por ejemplo ratas, ratones, conejos, etc.

30 Se entiende que el número de dosis a ensayar se determina en función del efecto farmacológico del fármaco psicotrópico o del producto de combinación que asocia el fármaco psicotrópico y el agente que bloquea las conexinas; cuando el efecto farmacológico ejercido por una cierta dosis es nula o insignificante, ya no es necesario utilizar dosis más bajas.

35 La administración del fármaco o del producto de combinación se puede efectuar por vía intracerebral, pero se efectúa preferentemente por vía intraperitoneal.

40 De manera ventajosa, el efecto ejercido por el fármaco psicotrópico y/o el producto de combinación se puede determinar mediante diferentes tipos de análisis, en particular un análisis electrofisiológico o del comportamiento o de marcadores sanguíneos o de marcadores LCR, o por formación de imágenes médica. Preferentemente, este efecto se determina por referencia a una respuesta electrofisiológica consecutiva a una estimulación dada, en particular en referencia a la actividad electroencefalográfica (EEG) del animal.

45 De manera ventajosa, este método de evaluación permite definir el esquema temporal óptimo para la administración de los dos elementos del producto de combinación (administración simultánea, separada o espaciada en el tiempo).

50 Este método de evaluación permite asimismo realizar una selección en lo que se refiere a la naturaleza del agente que bloquea las conexinas, del fármaco psicotrópico, así como de las dosis utilizadas.

Según un segundo aspecto, la presente invención se refiere a un nuevo producto de combinación que contiene por lo menos un agente que bloquea las conexinas y a un fármaco psicotrópico, y a su utilización en pacientes que sufren trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.

55 Diferentes moléculas son conocidas por bloquear las uniones incompletas por medio de las conexinas.

60 Entre ellas, la familia de los fenamatos comprende los compuestos siguientes: el ácido meclofenámico, el ácido flufenámico, el ácido niflúmico, el ácido tolfenámico. Todos estos compuestos tienen una actividad no esteroidea anti-inflamatoria, pero esta actividad no es responsable de su capacidad para bloquear las uniones incompletas. En efecto, se ha sugerido que los fenamatos establezcan más bien una interacción directa con las conexinas o con las interfaces membranas de proteínas que pudieran influir sobre la conformación de las conexinas y, en consecuencia, sobre su papel funcional (Harks EG, The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 21 de septiembre, 298(3):1033-41).

El ácido 2-[(2,6-di-cloro-3-fenil)amino]benzoico, más comúnmente conocido bajo el nombre de ácido meclofenámico (MFA) es un agente anti-inflamatorio no esteroideo y un analgésico periférico de la clase de los fenamatos, inhibidor de las prostaglandinas, descrito entre los bloqueantes hidrosolubles como el más eficaz para bloquear las uniones incompletas de manera reversible. Además, el ácido meclofenámico no es específico de un tipo de conexina y es por lo tanto eficaz para bloquear un gran número de conexinas cerebrales (Pan F, *Vis Neurosciences* 2007, julio-agosto; 24(4):609-18).

Los derivados de ácido glicirretínico designan los ácidos 18-β-glicirretínico (BGA) también conocido bajo el nombre de "enoxolona", 18-α-glicirretínico y la carbenoxolona, que son unas saponinas triterpinoides conocidas porque inhiben la enzima 11-hidroxiesteroide deshidrogenasa. Por otra parte, estos compuestos son capaces de inhibir las uniones incompletas de manera muy eficaz (Pan F, *Vis Neurosciences* 2007, julio-agosto; 24(4):609-18).

La mefloquina (LARIAM), de la familia de las quininas, tiene también un fuerte poder antagonista sobre las uniones incompletas (Srinivas M, *PNAS* 2001, 98:10942-10947; Pan F, *Vis Neurosciences* 2007, julio-agosto; 24(4):609-18).

Ciertos agentes anestésicos, tales como el halotano y el isoflurano, tienen un efecto rápido y reversible de bloqueo de las uniones incompletas (Burt JM, *et al.*, *Circ Research*. 1989; 65:829,37).

Por otra parte, la oleamida (cis-9-octadecenamida), la primera amida del ácido oleico tiene también una acción inhibidora sobre las moléculas de conexinas 43 y 32 (Guan X. *et al.*, *J. Cell Biol* 1997; 139:1785-92).

Además, las ciclodextrinas (la α-ciclodextrina (α-CD), la β-ciclodextrina (β-CD), y la γ-ciclodextrina (γ-CD)) que son unos oligosacáridos cíclicos naturales de α-D-glucopiranososa, tienen unas propiedades anti-conexinas comprobadas (Locke D. *et al.*, *J Biol Chem* 2004; 279: 22883-92).

Por último, el 2-aminoetil-difenilborato (2-APB) es un compuesto recientemente identificado como agente que bloquea las uniones incompletas (Bai D, *J Phannacol Exp Ther*, diciembre de 2006; 319(3):1452-8). Este modulador del receptor de inositol 1,4,5-trifosfato tiene sin embargo como objetivo, de manera bastante específica, ciertas conexinas como las conexinas 26, 30, 36, 40, 45 y 50 (Bai D, *J Phannacol Exp Ther*, diciembre de 2006; 319(3):1452-8).

Paralelamente, se han propuesto recientemente otras moléculas para bloquear el dominio extracelular de las conexinas, dominio que es importante para el funcionamiento de las uniones incompletas. Se trata en particular de anticuerpos dirigidos contra el dominio extracelular de las conexinas (Hofer A *et al.*, *Glia* 1998; 24:141-54; Meyer RA, *J. Cell Biol.* 1992; 119: 179-89) o también de pequeños péptidos que mimetizan secuencias específicas conservadas de los bucles extracelulares E1 y E2 de las conexinas (Dahl G. *et al.*, *Biophys J*, 1994; 67:1816-22); en particular, los péptidos que corresponden a las secuencias extracelulares que incluyen las unidades conservadas QPG y SHVR de E1 (Gap26) y la unidad conservada SRPTEK de E2 (Gap 27) de las conexinas son los más eficaces para bloquear las uniones incompletas (Chaytor AT *et al.*, *J. Physiol* 1997; 503 :99-110).

En el marco de la presente invención, los agentes que bloquean las conexinas se seleccionan ventajosamente de entre: los alcoholes de cadenas largas (por ejemplo heptanol y octanol, los fenamatos (por ejemplo el ácido meclofenámico, el ácido flufenámico, el ácido niflúmico, el ácido tolifenámico), los arilaminobenzoatos, los aminosulfonatos (por ejemplo la taurina), los derivados de ácidos glicirretínico (por ejemplo el ácido 18-β-glicirretínico, el ácido 18-α-glicirretínico y la carbenoxolona), las oleamidas (por ejemplo la cis-9-octadecenamida) o también los iones tetraalquilamonio y las poliaminas (tales como la espermina y la espermidina), los derivados de quinina (como la mefloquina), el 2-ABP, los agentes anestésicos (halotano o isoflurano), las ciclodextrinas (la α-ciclodextrina (α-CD), la β-ciclodextrina (β-CD), y la γ-ciclodextrina (γ-CD)), los anticuerpos dirigidos contra el dominio extracelular de las conexinas o también los péptidos de unidades conservadas que mimetizan este dominio particular (en particular Gap 26 y Gap 27). Estas diferentes moléculas están precisamente descritas en los artículos siguientes: Srinivas M, *Connexins: a guide*, Humana Press 2009, capítulo 8, p. 207-224; Srinivas M, *Molecular Pharmacology* junio de 2003, 63(6): 1389-97; Harks EG, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* septiembre de 2001, 298(3): 1033-41; y Salameh A, *Biochimica et Biophysica Acta* 1719 (2005) 36-58.

De manera preferida, el agente que bloquea las conexinas está comprendido en el grupo que comprende el ácido meclofenámico, el ácido 18-β-glicirretínico, la carbenoxolona, la mefloquina y el 2-APB, de manera aún más preferida en el grupo que comprende el ácido meclofenámico, el ácido 18-β-glicirretínico y la carbenoxolona.

Estos compuestos se proporcionan a título de ejemplo, y la invención se refiere a cualquier molécula que posee unas propiedades de bloqueo funcional, directas o indirectas, de las conexinas o de las uniones incompletas.

Algunas moléculas que tienen una función anti-conexina reconocida han sido descritas asimismo por sus efectos anti-inflamatorio, anestésico, o también sobre la homeostasis de la prostaglandina, y presentan por lo tanto, por sí mismas, unos efectos sobre el sistema nervioso central. Sin embargo, a las dosis a las que se utilizan estas

moléculas en la invención (dosis muy bajas), las actividades diferentes que la anti-conexina no participan en estos efectos. Además, la utilización de dosis bajas permite una mejor especificidad tisular dependiente de la composición en conexina del tejido, ya que el SNC es particularmente rico en conexina.

Por último, conviene señalar que las moléculas anti-inflamatorias pueden conllevar, indirectamente, por su acción sobre la prostaglandina sintasa, una modificación estructural de las conexinas (la regulación de los niveles de expresión de conexina o de su fosforilación se lleva a cabo en particular a través de P13K y PKA, dependientes a su vez de los niveles de actividad de Cox, NO y PG sintasas, objetivos de los anti-inflamatorios). Estas modificaciones, en el sentido de una disminución de presencia de conexinas dentro de las uniones, conlleva indirectamente una disminución de la actividad funcional de las conexinas similar a un bloqueo directo de las conexinas. Por consiguiente, la utilización de estas moléculas conducirá al efecto buscado (bloqueo de las conexinas) y no representa un obstáculo para su utilización en asociación a baja dosis con psicotrópicos (Yao J, Morioka T & Oite T.: *Kidney Int.* 2000;57:1915-26. Yao J, Hiramatsu N, Zhu Y, et al.: *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16:58-67; Figueroa XF, Alvina K, Martínez AD, et al.: *Microvasc Res.* 2004; 68:247-57 Alldredge BT.: *J Clin Pathol.* 12 de mayo de 2008; Lai-Cheong JE, Arita K & McGrath JA.: *J Invest Dermatol.* 2007;127:2713-25, y Giepmans BN.: *Cardiovasc Res.* 2004;62:233-45).

Por otra parte, la formación de las uniones incompletas funcionales se puede regular por medio de la fosforilación de las conexinas. En efecto, la fosforilación de ciertos dominios proteicos de las sub-unidades de hexámero conduce a una inhibición de la funcionalidad de las uniones incompletas, según el sitio de fosforilación, por cierre de los canales o por disminución de la presencia a la membrana (modificación de tráfico y de la vida media de las sub-unidades) (Scemes E, *Glia* enero de 2008 15, 56(2): 145-53; Postma FR, *J Cell Biol* 1998 9 de marzo, 140(5): 1199-209; Shaw RM, *Cell* 2007, 9 de febrero, 128(3):547-60; Fabrizi GM. *Brain* febrero de 2007. 130(Pt2):394-403).

Así, unas moléculas pueden tener un efecto indirecto de bloqueo de las uniones incompletas, a través de los niveles de fosforilación de las conexinas. Son en particular: el ácido lisofosfatídico, la trombina y unos neuropéptidos, como la endotelina (Postma FR, *J Cell Biol* 9 de marzo de 1998,140(5): 1199-209).

En un modo de realización preferido de la invención, el agente que bloquea las conexinas tiene un efecto indirecto sobre las conexinas y las uniones incompletas, y se selecciona de entre el grupo constituido por: el ácido lisofosfatídico, la trombina y unos neuropéptidos, como la endotelina.

En un modo preferido de la invención, el agente que bloquea las conexinas no es ni un agente anestésico, ni un agente anti-inflamatorio, ni un agente inhibidor de la síntesis de la prostaglandina. Según este modo de realización preferido, el agente que bloquea las conexinas es el 2-aminoetoxidifenilborato (2-APB).

El agente que bloquea las conexinas puede mejorar ventajosamente el efecto terapéutico de los fármacos psicotrópicos prescritos por un médico para tratar a un paciente que padece uno de los trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos. En el animal, esta mejora se puede medir mediante el método de evaluación de dosis equivalente eficaz, que es el primer objetivo de la invención.

Se entiende por "psicotrópico" cualquier sustancia que actúa principalmente sobre el estado del sistema nervioso central modificando ciertos procesos bioquímicos y fisiológicos cerebrales.

La presente invención se distingue de la técnica anterior porque, en el producto de combinación, los beneficios terapéuticos aportados por el agente que bloquea las conexinas no son específicos de la utilización de un fármaco psicotrópico en particular, pero se aplican de manera similar a numerosas moléculas que tienen unos efectos psicotrópicos.

De manera preferida, los fármacos psicotrópicos se seleccionan de entre los psicotrópicos efectores dopaminérgicos, GABAérgicos, adrenérgicos, acetilcolinérgicos, serotoninérgicos, opioidérgicos, adenosinérgicos, ionotrópicos, histaminérgicos, IMAO, catecol-O-metil transferasa, DOPA descarboxilasa, noradrenérgicos.

El término "efector" designa cualquier sustancia que activa o que inhibe uno o varios neuro-receptores, por lo tanto, puede tratarse de un agonista o de un antagonista de dichos receptores.

Según un modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector dopaminérgico tal como la loxapina, la acepromazina, el metilfenidato, la amantadina, la pergolida, la lisurida, la bromocriptina, el ropinirol, la apomorfin, el aripiprazol, la sulpirida, la amisulprida, la sultoprida, la tiaprida, la pimozida, la risperidona, el haloperidol, el penfluridol, el zuclopentixol o el Bupropión.

Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector GABAérgico, tal como la tiagabina, el topiramato, el clorazepato, el diazepam, el clonazepam, el oxazepam, el lorazepam, el bromazepam, el lormetazepam, el nitrazepam, el clotiazepam, el alprozolam, el estazolam, el triazolam, el loprazolam, la etifoxina, el meprobamato, la zopiclona, el zolpidem, el fenobarbital, el felbamato, la vigabatrina.

Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector adrenérgico tal como la dihidroergotamina, el modafinilo, el adrafinil, la mirtazapina, la oxetorona.

5 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector acetilcolinérgico tal como la sulbutiamina, la tropatepina, el trihexilfenidilo.

10 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector serotoninérgico tal como la clorpromazina, la trimipramina, la clozapina, la olanzapina, la ciamemazina, el flupentixol, el nefopam, la fluvoxamina, la clomipramina, la sertralina, la fluoxetina, el citalopram, la escitalopram, la paroxetina, la amitriptilina, la duloxetina, la venlafaxina, la bupiriona, la carpipramina, el zolmitriptano, el sumatriptano, el naratriptano, la indoramina, la ergotamina, el tartrato de ergotamina, el pizotifeno, la pipamperona, la metisergida, la pizotilina, la tianeptina, el milnacipran, la amitriptilina, la trimipramina, la viloxazina, la tianeptina, el hipérico, el litio.

15 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector opioidérgico, tal como la nalbufina, la buprenorfina, la petidina, la codeína, el tramadol, la morfina, la hidromorfona, la oxicodona, la metadona, el dextroproxifeno, la meperidina, el fentanilo, la naltrexona, el clorhidrato de morfina.

20 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector adenosinérgico tal como la carbamazepina, la oxcarbazepina.

Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector ionotrópico tal como la flunarizina, la etosuximida, el levetiracetam, la lamotrigina, la fosfenitoína, la fenitoína.

25 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector histaminérgico tal como la niaprazina, la hidroxizina, la doxilamina.

Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector Monoamina oxidasa tal como la moclobemida, la selegilina, la iproniazida.

30 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector catecol-O-metil transferasa tal como la entacapona, la tolcapona.

Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector DOPA descarboxilasa tal como la benserazida, la carbidopa.

35 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector noradrenérgico tal como la mianserina, la desipramina, la moclobemida o el Bupropión.

40 Según otro modo de realización particular, el fármaco psicotrópico es un efector que actúa a nivel del sistema límbico tal como la gabapentina, la captodiamina.

45 De manera aún más preferida, la molécula psicotrópica seleccionada es la clozapina, derivada de dibenzodiazepina, o bien la paroxetina, el escitalopram, la sertralina, o la venlafaxina, que son unos efectores serotoninérgicos, o cualquier otro psicotrópico serotoninérgico tales como la clorpromazina, la trimipramina, la olanzapina, la ciamemazina, el flupentixol, el nefopam, la fluvoxamina, la clomipramina, la fluoxetina, el citalopram, la amitriptilina, la duloxetina, la bupiriona, la carpipramina, el zolmitriptano, el sumatriptano, el naratriptano, la indoramina, el tartrato de ergotamina, el pizotifeno, la pipamperona, la metisergida, la pizotilina, la tianeptina.

50 De manera aún más preferida, la molécula psicotrópica seleccionada es el modafinilo, derivado de difenilmetano, que es un efector adrenérgico, o cualquier otro psicotrópico efector adrenérgico tales como la dihidroergotamina, el adrafinil, la mirtazapina, la oxetorona.

55 Así, de manera aún más preferida, la molécula psicotrópica se selecciona de entre: el modafinil, la clozapina, la paroxetina, el diazepam, la venlafaxina, el escitalopram, el Bupropión, la sertralina.

60 En un modo de realización preferido, la molécula psicotrópica es un antidepresivo seleccionado de entre: la moclobemida (MOCLAMINE), la amitriptilina (LAROXYL), la clomipramina (ANAFRANIL), el milnacipran (IXEL), la escitalopram (SEROPLEX), el citalopram (SEROGRAM), la fluoxetina (PROZAC), la paroxetina (DEROXAT), la fluvoxamina (FLOXYFRAL), la sertralina (ZOLOFT), la mirtapazina (NORSET), la duloxetina (Cymbalta) o la venlafaxina (EFFEXOR) y el Bupropión (ZYBAN).

En un modo de realización aún más preferido, la molécula psicotrópica es un antidepresivo seleccionado de entre el grupo que comprende: la paroxetina, la venlafaxina, el escitalopram, el Bupropión y la sertralina.

65 Según un tercer aspecto, la presente invención se refiere asimismo a la utilización de este producto de combinación, de manera simultánea, separada o espaciada en el tiempo, en pacientes que sufren trastornos psiquiátricos y/o

neurodegenerativos.

Los pacientes que necesitan este tratamiento pueden presentar trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos comprendidos en el grupo constituido por: la depresión, las enfermedades bipolares, la epilepsia, la esquizofrenia, la ansiedad generalizada, los estados melancólicos, las enfermedades debidas al estrés, el pánico, las fobias, los trastornos obsesivos compulsivos, los trastornos del comportamiento, la depresión del sistema inmunitario, la fatiga y los síntomas asociados al dolor, la fatiga crónica, la fibromialgia, y otros trastornos como el autismo, los déficits de atención, la hiperactividad, las enfermedades relacionadas con la alimentación como la bulimia, la anorexia, la obesidad, los trastornos psíquicos como la apatía, la migraña, el dolor, las enfermedades cardio-vasculares, las enfermedades neurodegenerativas y asociadas a la ansiedad depresiva (enfermedad de Alzheimer, Corea de Huntington, enfermedad de Parkinson), la toxicomanía y la adicción a las drogas.

En el caso de una utilización simultánea, los dos componentes del tratamiento combinado se administran al paciente simultáneamente. Según este modo de aplicación de la presente invención, los dos componentes pueden ser acondicionados juntos, en forma de mezcla, o bien acondicionados separadamente, y después mezclados extemporáneamente antes de ser administrados juntos al paciente. Más comúnmente, los dos componentes se administran simultáneamente pero de manera separada. En particular, las vías de administración de los dos componentes pueden ser diferentes. La administración también se puede llevar a cabo en sitios diferentes. En otro modo de aplicación, los dos componentes son administrados de manera extendida o espaciada en el tiempo, por ejemplo en el mismo día o a un intervalo que va desde algunos días hasta algunas semanas, incluso algunos meses.

Según un cuarto aspecto, la presente invención prevé la utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas para preparar un medicamento destinado a ser administrado antes, al mismo tiempo o después de un fármaco psicotrópico, para tratar un paciente que padece trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.

Según un quinto aspecto, la invención comprende la utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas, para modular y/o potenciar el efecto de un fármaco psicotrópico en pacientes que padecen trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.

El término “modular” significa en este caso intervenir por la potenciación o el antagonismo de los efectos directos o indirectos del fármaco psicotrópico administrado antes, simultáneamente o después del agente anti-conexina, en particular a nivel de los efectos secundarios.

El término “potenciar” significa en este caso aumentar significativamente los efectos del fármaco psicotrópico administrado antes, simultáneamente o después del agente anti-conexina. Así, la asociación del fármaco psicotrópico con el agente anti-conexina permite disminuir las dosis de dicho fármaco psicotrópico y por lo tanto limitar los efectos secundarios de dicho fármaco psicotrópico, y/o reducir los efectos de escape y de abstinencia.

La invención se refiere por lo tanto también a la utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas, para disminuir las dosis de dicho fármaco psicotrópico y/o limitar los efectos secundarios de dicho fármaco psicotrópico, y/o reducir los efectos de escape y de abstinencia.

Según un último aspecto, la invención describe un método para tratar un paciente que padece trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos, que comprende la administración a este paciente de:

- a) por lo menos una sustancia activa seleccionada de entre los fármacos psicotrópicos, y
- b) por lo menos un agente que bloquea las conexinas,

y en el que dichos productos a) y b) son administrados simultáneamente, separadamente o de manera separada en el tiempo.

Ejemplos

El análisis de los campos del cerebro por electroencefalografía está considerado hoy en día como una técnica fiable y muy sensible para caracterizar los efectos de un fármaco sobre el sistema nervioso central. La electroencefalografía (EEG) es la medición de la actividad eléctrica del cerebro por unos electrodos colocados sobre el cuero cabelludo, frecuentemente representado en forma de un trazado denominado electro-encefalograma. Comparable al electrocardiograma que permite estudiar el funcionamiento del corazón, la EEG es un examen indoloro y no invasivo que informa sobre la actividad neurofisiológica del cerebro durante el tiempo y en particular de la corteza cerebral, o bien con un objetivo de diagnóstico en neurología, o bien en la búsqueda en neurociencias cognitivas. La señal eléctrica de la base de la EEG es la resultante, para cada frecuencia, de la suma de los potenciales de acción post-sinápticos sincronizados procedentes de un gran número de neuronas.

Se ha demostrado que la potencia eléctrica asociada a cada frecuencia puede variar independientemente de la de las otras en función del comportamiento del individuo o del fármaco administrado (Dimpfel W, *Neuropsychobiology*.

1986;15(2):101-8). Después de la administración de un fármaco, el electroencefalograma del paciente cambia, y la distribución de los potenciales asociados a cada frecuencia constituye el electrofarmacograma de este fármaco. En general, los electrofarmacogramas son de naturalezas diferentes para fármacos prescritos para enfermedades diferentes, y son similares cuando éstos pretenden tratar unas patologías idénticas (Dimpfel W, *British Journal of Pharmacology* 2007, 152, 538-548). Se han determinado los electrofarmacogramas que corresponden a más de 150 fármacos (por ejemplo, analgésicos, antidepresivos, neurolépticos, estimulantes, tranquilizantes, sedativos y narcóticos). Hoy en día, tras numerosos estudios, la determinación y el análisis del electrofarmacograma se considera como una técnica fiable para medir los efectos farmacológicos de un fármaco. Además, los parámetros de EEG permiten obtener unas informaciones cuantitativas sobre el desarrollo en fase clínica de numerosos compuestos (Mandema & Danhof, *Clin. Pharmacokinet.* 1992, 23, 191-215). La medición del potencial EEG puede ser utilizada asimismo para identificar los receptores celulares de los fármacos administrados (Parker TJ, *British Journal of Pharmacology* 2001, 132, 151-158). La EEG es una medición de la actividad eléctrica del cerebro y existen diferentes modos de representaciones de datos electroencefalográficos. La primera es la representación de los trazados y la identificación de fenómenos ondulatorios característicos. Este dato cualitativo es informativo para episodios de actividad eléctrica bien determinados, pero no informa sobre el aspecto cuantitativo de la actividad eléctrica. Para eso, el experimentador utiliza la EEG cuantitativa basada en el análisis de la señal por transformada de Fourier que permite obtener unos valores de potencia para una frecuencia dada a lo largo del tiempo. Este valor de potencia se lleva de nuevo a un valor control que permite determinar la modificación de potencia para una frecuencia dada a lo largo del tiempo. Se puede realizar la media de este valor mediante periodos de tiempo variables según los experimentos. Estas variaciones de potencia a lo largo del tiempo pueden ser representadas según los autores, o bien en forma de medias en intervalos específicos de frecuencias que corresponden a ritmos fisiológicos o patológicos (Delta (1-4 Hz), Theta (4,5-8 Hz), Alfa (8,5-12 Hz) Beta (12,5-24 Hz) y Gamma (>24 Hz)), o bien en forma de histogramas de potencias relativas Hz por Hz. Estos dos modos de representaciones son estrictamente equivalentes, derivándose uno del otro. (Véase EEG: Bases neurophysiologiques, principes d'interprétation et de prescription Jean Vion-Dury, France Blanquet. Editor: MASSON; Colección: Abrégé Masson). En los ejemplos presentados más adelante, se ha elegido la representación de las potencias relativas Hz por Hz.

En lo referente por ejemplo a los antipsicóticos atípicos, y en particular a la clozapina, se ha demostrado que su administración induce a un electrofarmacograma bifásico en el tiempo: durante la primera hora, el potencial EEG es muy elevado para las frecuencias muy bajas (entre 0,8 y 4,5 Hz (ritmo delta) y entre 7 y 9,5 Hz (ritmo alfa 1), y de intensidad baja en las frecuencias entre 4,75 y 6,75 Hz (ritmo teta) y superiores a 18,5 Hz (ritmo beta), lo cual es la señal de una respuesta clínica positiva (Galderisi S, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2002, 24, 85-89). Durante la segunda hora, el potencial EEG es de intensidad media sobre las frecuencias que van de 8 a 15 Hz, lo cual puede implicar unos efectos secundarios extrapiramidales. En efecto, un potencial EEG de intensidad mediana en la segunda hora para las frecuencias 7-9,5 Hz y 12,75-18,50 Hz, indica que los efectos secundarios estarán presentes (Dimpfel W, *British Journal of Pharmacology* 2007, 152, 538-548).

Protocolo:

- Pre-implantación de los electrodos

Se pre-implantó a un grupo de 6 ratas Wistar en vigilia 6 electrodos bipolares bilaterales (2 frontales, 2 hipocámpicos anteriores, 2 hipocámpicos posteriores).

- Inyecciones

Se han realizado diferentes tratamientos por combinación circular de 6 ratas por tratamiento (tratamiento psicotrópico sólo, tratamiento con anti-conexina sola, tratamiento asociación anti-conexina + psicotrópico). La inyección del ácido meclofenámico (Sigma) se realiza por inyección lenta sub-meníngea (80 ng/kg, 4,5 pg/segundo) o intraperitoneal a diferentes dosis. La inyección del ácido glicirretínico (Sigma) se realiza por inyección sub-meníngea (80 ng/kg). La inyección de Clozapina (Sigma) se realiza por vía intraperitoneal (0,2 mg/kg). La inyección de Paroxetina (Sigma) se realiza por vía intraperitoneal (0,5 mg/kg). La inyección de Modafinilo (Cephalon) se realiza por vía intraperitoneal (125 mg/kg y 250 mg/kg).

- Medición de EEG

Las mediciones de EEG se realizaron sobre los diferentes grupos de ratas en vigilia (previamente implantadas y acostumbradas) por registros de 2 horas después de la inyección. El análisis espectral realizado mediante transformada de Fourier (FFT) permite la obtención de las potencias relativas Hertzio por Hertzio y segundo por segundo. Se realiza después una media de los datos de FFT minuto por minuto y se lleva de nuevo al control disolvente efectuado el día anterior del registro en condiciones experimentales estrictamente idénticas. Se realiza después una media de las potencias espectrales relativas de las cortezas prefrontales izquierda y derecha por periodos de 5 minutos, promediada por grupo de 12 repeticiones de 5 minutos y representadas hora por hora.

- *Análisis estadísticos:*

Los datos resultantes del análisis cuantitativo relativo de EEG de los efectos de los diferentes fármacos administrados individualmente (psicotrópicos solos o anti-conexinas solas), presentados en los ejemplos, se han sometido a un análisis estadístico por análisis de Variance (ANOVA) a tres factores: "frecuencia" (por Hz), "tiempo" (primera y segunda hora por 12 repeticiones de 5 minutos promediadas), y "animal" (6 animales diferentes para cada tratamiento). Para las asociaciones de psicotrópicos y anti-conexinas presentadas en los ejemplos, se ha introducido un cuarto factor de ANOVA: "asociación anti-conexina". El límite de significatividad de las modificaciones de potencia relativa para una frecuencia dada para un fármaco psicotrópico solo con respecto al control (disolvente del psicotrópico) o un fármaco psicotrópico en asociación con una anti-conexina con respecto al psicotrópico administrado solo (en favor de un aumento o de una disminución de potencia relativa) se ha seleccionado a un valor de $p < 0,05$.

Ejemplo 1: Efectos de inhibidores de conexinas

Se realizó una serie de experimentos para estudiar la influencia de las conexinas en la actividad EEG de diferentes estructuras del cerebro. Para ello, se han inhibido las conexinas cerebrales, mediante administración lenta, directamente sub-meningea, de un inhibidor de conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). En las mismas condiciones experimentales, se han estudiado los efectos de la administración intra-cerebral del ácido glicirretínico (BGA), otro agente anti-conexina.

El análisis de la actividad eléctrica cerebral en las ratas tratadas con el inhibidor de conexina (MFA) por vía intracerebral pone en evidencia un aumento significativo del potencial EEG y por lo tanto de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (140%) para las frecuencias 8-10 Hz, en la primera hora y extendiéndose en la segunda hora. Se observan unas modificaciones significativas similares durante la inyección de otra clase de anti-conexina (ácido glicirretínico) por vía intracerebral (figura 1).

Esta sincronización indica que las conexinas tienen un papel fisiológico de desincronización de las actividades eléctricas. Debido al efecto global de los inhibidores de conexinas sobre las diferentes regiones estudiadas y la presencia ubicua de las uniones compuestas por conexinas en el cerebro, estos resultados experimentales permiten reinterpretar los datos de la bibliografía y proponer un papel inédito de las conexinas en la normalización de las actividades electrofisiológicas del cerebro. Esta normalización tendría como objetivo circunscribir los fenómenos de aceleración de la actividad eléctrica y modular y amortiguar las disfunciones anárquicas del sistema altamente interconectado.

Ejemplo 2: Efecto de un antipsicótico atípico en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de explorar la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un tratamiento farmacológico asociado a moléculas anti-conexinas.

En este ámbito, se han estudiado los efectos de la clozapina en asociación con un inhibidor de conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). La clozapina es un antipsicótico atípico indicado en las esquizofrenias, antagonista de los receptores serotoninérgicos y dopaminérgicos, alternativamente antagonista adrenérgico, colinérgico e histaminérgico, y que presenta un espectro típico de activación EEG complejo (Parker TJ, *British Journal of Pharmacology* 2001, 132, 151-158), y una lista considerable de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (aumento de peso, disminución de médula ósea y del número de glóbulos rojos en la sangre).

2.1 Efecto de la clozapina

En una primera fase, el modelo experimental se ha validado para verificar que estaba de acuerdo con los datos publicados (Dimpfel W, *British Journal of Pharmacology* 2007, 152, 538-548, Parker TJ, *British Journal of Pharmacology* 2001, 132, 151-158). Se han realizado por lo tanto unos registros del efecto de la clozapina.

El análisis espectral de las EEG pone en evidencia un aumento significativo del potencial EEG, y por lo tanto de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (200%) para las frecuencias 8-10 Hz y en una medida más pequeña para las frecuencias 16-20 Hz durante el tratamiento con el antipsicótico sólo, a partir de la primera hora y extendiéndose en la segunda hora (figura 2).

Estas observaciones están perfectamente de acuerdo con los efectos característicos de antipsicótico atípico referidos en la bibliografía (Dimpfel W, *British Journal of Pharmacology* 2007, 152, 538-548, Parker TJ, *British Journal of Pharmacology* 2001, 132, 151-158).

2.2 Efecto de la asociación clozapina y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto

electrofisiológico de la clozapina.

Durante el tratamiento que combina el antipsicótico (clozapina) y el inhibidor de conexina (MFA), el análisis espectral de EEG pone en evidencia un aumento significativo de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (260%) para las frecuencias 8-10 Hz y en una medida más baja para las frecuencias 16-20 Hz a partir de la primera hora. Este aumento significativo de la sincronización corresponde al espectro de la clozapina y corresponde por lo tanto a una potenciación del efecto de la clozapina por bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Este mecanismo de refuerzo del efecto de la clozapina por la anti-conexina está controlado en el tiempo. En efecto, en la segunda hora persiste solo el efecto anti-conexina (figura 2).

Además, focalizando el análisis sobre una frecuencia significativa (la frecuencia de 8 Hz por ejemplo), el refuerzo del efecto de la clozapina observado se acompaña de una amortiguación considerable de la amplitud de los efectos de oscilación (figura 3), mientras que el tratamiento con la clozapina sola conlleva unas fluctuaciones de amplitud importante (figura 3).

Así, la amortiguación de las fluctuaciones inducida por bloqueo del sistema de unión de las conexinas indica que las conexinas podrían desempeñar un papel en la colocación de estas fluctuaciones breves de la actividad electrofisiológica. Estas fluctuaciones corresponderían a unos mecanismos rápidos de agitación de la actividad por la clozapina y controladas por las conexinas.

En definitiva, estos resultados confirman la hipótesis de un papel modular (en intensidad global y sobre unas fluctuaciones locales y temporales) de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas. Por otra parte, estas observaciones demuestran una modulación inédita del efecto del antipsicótico por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta mediante la potenciación significativa y la estabilización del efecto del antipsicótico sobre un periodo más corto. Esta potenciación del efecto del antipsicótico sería idéntica a la obtenida con una dosis más importante de clozapina pero con un control sobre la duración de acción.

Ejemplo 3: Comparaciones de las vías de administración

Se han comparado las consecuencias electrofisiológicas del bloqueo de las conexinas según la vía de administración central o periférica (intracerebral frente a intraperitoneal) del inhibidor MFA.

El análisis espectral de EEG, que evalúa las vías de administración periférica y central demuestra un aumento significativo comparable de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal a partir de la primera hora, para intervalos de frecuencias similares. Sin embargo, el aumento significativo de la sincronización prosigue en la segunda hora para la administración periférica mientras que disminuye para la administración central. Esta diferencia en la segunda hora está relacionada con la farmacocinética de las vías de administración (figura 4).

En definitiva, estos resultados preliminares indican que la vía de administración, ya sea intracerebral o periférica, modifica el efecto solamente en su amplitud.

Ejemplo 4: Efecto de diferentes dosis de anti-conexina por vía intraperitoneal

Se han comparado las consecuencias electrofisiológicas del bloqueo de las conexinas según la dosis administrada por vía periférica del inhibidor MFA (efecto dosis).

El análisis espectral de EEG, que evalúa las dosis administradas por vía periférica, pone en evidencia unas variaciones significativas importantes de la sincronización sobre diferentes intervalos de frecuencia según la dosis. Estas modificaciones en favor de una sincronización de la actividad cerebral prefrontal aparecen a partir de la primera hora y prosiguen en la segunda hora de manera variable según la dosis. Esta sincronización por inhibición de las conexinas confirma el carácter desincronizador fisiológico de las conexinas (figura 5). Estas variaciones importantes de sincronización según la dosis se pueden deber a la representación cuantitativa (número de uniones incompletas variable según la red del sistema nervioso central, por ejemplo: colinérgica, noradrenérgica, serotoninérgica, etc.) y/o cualitativo (afinidad de las diferentes isoformas de conexinas para el inhibidor a la dosis dada) de las conexinas.

En definitiva, estos resultados preliminares indican que los efectos propios de las anti-conexinas administradas por vía intraperitoneal dependen de la dosis. Esto parece indicar que este sistema de modulación por medio de las conexinas, incluso si es ubicuo en el cerebro, presenta unas especificidades locales (de isoforma o de cantidad) en el cerebro y de acuerdo con la bibliografía (Fukuda T., Neuroscientist 2007; 13(3)199-207). Esto indica además que según el sistema que tiene específicamente por objetivo el fármaco psicotrópico (colinérgico, serotoninérgico, noradrenérgico, gabaérgico, etc.), según su estructura y sus propiedades químicas, según su farmacología (vida media, metabolismo, depuración), la dosis de anti-conexina deberá, sin duda, ser adaptada.

Por último, este estudio efecto-dosis ha permitido identificar la dosis de MFA administrada por vía intraperitoneal que

conlleva el mínimo de efecto EEG propio (sin modificación significativa en la primera hora, ligero aumento significativo en la segunda hora), compatible con la exploración de la potenciación de los efectos de diferentes psicotrópicos. Esta dosis de MFA es de 0,4 mg/kg (dosis 10 a 25 veces inferior a la dosis utilizada para unos efectos anti-inflamatorios) y será la dosis utilizada para los ejemplos de potenciación descritos en los ejemplos 5 y 6.

Ejemplo 5: Efecto de un primer antidepresivo en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un primer tratamiento farmacológico antidepresivo asociado a moléculas anti-conexinas.

En este ámbito, se han estudiado los efectos de la paroxetina en asociación con un inhibidor de conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). La paroxetina es un antidepresivo, indicado en los episodios depresivos agudos o crónicos, derivado de la fenilpiperidina del grupo de los inhibidores selectivos de la recaptura de la serotonina y que presenta una lista considerable de efectos indeseables de las dosis terapéuticas (apatía, dilatación de la pupila, náuseas, teratogenicidad, somnolencia, dolores de cabeza, modificaciones del peso y del apetito, cambios del comportamiento sexual, aumento de los sentimientos de depresión y de ansiedad, sequedad de la boca, comportamiento agresivo (sobre todo en los niños), posibles malformaciones congénitas, eritema, inestabilidad sicomotora, picores, agotamiento (sodio), sudores, pensamientos suicidas, debilidad muscular, dolores musculares, niveles de agresión inhabituales, síndrome serotoninérgico).

5.1 Efecto de la paroxetina

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental en la medida en la que no está disponible ninguna bibliografía sobre el efecto EEG de la paroxetina en la rata en vigilia. Sin embargo, diferentes estudios sobre los efectos de la paroxetina, en particular sobre los ritmos vigilia-sueño proporcionan las dosis farmacológicas de paroxetina en tratamiento agudo, que son generalmente de 2 a 5 mg/kg (Sanchez C., *Pharmacol Biochem Behav.* marzo de 2007;86(3):468-76).

Por lo tanto, se han realizado unos registros del efecto de la paroxetina sola a la dosis de 0,5 mg/kg administrada por vía intraperitoneal (4 a 10 veces inferiores a la dosis utilizada habitualmente en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG pone en evidencia un aumento significativo de las potencias relativas en la corteza prefrontal, y por lo tanto de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (aproximadamente 200%) 8-10 Hz y en una medida más pequeña para las frecuencias 2-3 Hz y 18-19 Hz durante el tratamiento con el antidepresivo sólo, a partir de la primera hora y que aumenta (aproximadamente 300%) en la segunda hora para las frecuencias 8-10 Hz y en una medida más pequeña para las frecuencias 2-3 Hz y 18-19 Hz (figura 6).

5.2. Efecto de la asociación paroxetina y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico de la paroxetina.

Durante el tratamiento que combina el antidepresivo (paroxetina) y el inhibidor de conexina (MFA), el análisis espectral de EEG pone en evidencia un aumento significativo de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (600%) para las frecuencias 8-10 Hz y en una medida más pequeña para las frecuencias 2-3 Hz y 18-19 Hz en la segunda hora. Este aumento significativo de la sincronización corresponde perfectamente al espectro de la paroxetina sola y corresponde, por lo tanto, a una potenciación considerable del efecto de la paroxetina por el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, este mecanismo de refuerzo del efecto de la paroxetina por la anti-conexina sigue la misma evolución temporal que la paroxetina sola. En efecto, la paroxetina sola o en asociación con la anti-conexina conlleva unos efectos EEG que aumentan en la segunda hora y que se deben atenuar varias horas después de la administración (figura 6).

Así, a diferencia de la clozapina, que conlleva un máximo de actividad EEG a partir de la primera hora, la paroxetina conlleva unos efectos más prolongados en el tiempo y que tardan más tiempo en instalarse. La potenciación por la anti-conexina conserva por lo tanto las propiedades de evolución temporales de las moléculas psicotrópicas estudiadas (de naturalezas químicas diferentes, que tienen por objetivo unos sistemas diferentes y de indicación muy diferentes) y refuerza la noción de un sistema de modulación por las conexinas no limitado a un solo sistema de neurotransmisión.

En definitiva, estos resultados confirman la hipótesis de un papel modulador (en intensidad global y sobre la evolución temporal) de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estas observaciones demuestran una modulación inédita del efecto del antidepresivo por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por la potenciación del efecto del antidepresivo a una dosis de 4 a 25 veces menos importante que la dosis farmacológica. Esta potenciación del efecto del antidepresivo

por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de antidepresivo de 4 a 25 veces, con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de la dosis medido de la asociación paroxetina y anti-conexina sería por lo tanto superior a 4.

5 Ejemplo 6: Efecto de un psicoestimulante en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un tratamiento farmacológico psicoestimulante asociado a moléculas anti-conexinas.

En este ámbito, se han estudiado los efectos del modafinilo (Provigil) en asociación con un inhibidor de conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). El modafinilo es un psicoestimulante, indicado en el tratamiento de la narcolepsia y de la hipersomnia idiopática, inhibidor de la recaptura de la noradrenalina y que presenta una lista de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (excitación, agresividad, insomnio, anorexia, dolores de cabeza, náuseas, gastralgias, erupciones cutáneas alérgicas).

6.1. Efecto del modafinilo

En un primer tiempo, el modelo experimental se ha evaluado con los datos publicados que proporcionan en particular las dosis farmacológicas de modafinilo en tratamiento agudo que son generalmente de 100 a 350 mg/kg (Sebban C., *British Journal of Pharmacology* (1999) 128, 1045-1054, De saint Hilaire Z., *Neuroreport*. 16 de noviembre de 2001 16;12(16):3533-7). Por lo tanto, se han realizado unos registros del efecto del modafinilo solo a dos dosis (125 y 250 mg/kg).

El análisis espectral de EEG pone en evidencia un aumento significativo del potencial EEG y por lo tanto la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (300% para la dosis de 250 mg/kg y 120% para la dosis de 125 mg/kg) para las frecuencias 2-5 Hz y una disminución significativa del potencial EEG, y por lo tanto una desincronización de la actividad cerebral prefrontal (10 a 30%) para las frecuencias 10-25 Hz para la dosis de 125 mg/kg y en una medida más pequeña para la dosis de 250 mg/kg para el tratamiento con el psicoestimulante sólo, a partir de la primera hora y que aumenta en la segunda hora (figura 7).

Estas observaciones son compatibles con los efectos característicos de psicoestimulante referidos en la bibliografía (Sebban C., *British Journal of Pharmacology* (1999) 128, 1045-1054, De Saint Hilaire Z., *Neuroreport*. 16 de noviembre de 2001;12(16):3533-7).

6.2. Efecto de la asociación modafinilo y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre los efectos electrofisiológicos del modafinilo a dosis baja (125 mg/kg).

Durante el tratamiento que combina el psicoestimulante (modafinilo) y el inhibidor de conexina (MFA), el análisis espectral de EEG pone en evidencia un aumento significativo de la sincronización de la actividad cerebral prefrontal (300%) para las frecuencias 2-5 Hz y en una medida más pequeña una disminución significativa del potencial EEG, y por lo tanto una desincronización de la actividad cerebral prefrontal para las frecuencias 10-25 Hz a partir de la primera hora y que aumenta en la segunda hora (figura 7). Estas modificaciones EEG corresponden perfectamente al espectro de modafinilo solo en la dosis fuerte (250 mg/kg) y corresponden por lo tanto a una potenciación del efecto de modafinilo por el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, como en la clozapina y en la paroxetina, este mecanismo de refuerzo del efecto del modafinilo por la anti-conexina sigue la misma evolución temporal que el modafinilo solo a una dosis superior. Esta potenciación por la anti-conexina que conserva las propiedades de evolución temporales de los psicotrópicos de naturaleza muy diferente confirma de nuevo la noción de un sistema de modulación por las conexinas no limitado a un solo sistema de neurotransmisión.

En definitiva, estos resultados confirman la hipótesis de un papel modulador (en intensidad global y sobre la evolución temporal) de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas. Por otra parte, estas observaciones demuestran una modulación inédita del efecto de psicoestimulante por la combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por la potenciación del efecto del psicoestimulante a una dosis baja y mimetiza perfectamente los efectos de una fuerte dosis. Esta potenciación del efecto del psicoestimulante por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de psicoestimulante de un factor de por lo menos dos, sin efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación modafinilo y anti-conexina sería por lo tanto de por lo menos dos.

Ejemplo 7: Efecto de un ansiolítico en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un tratamiento farmacológico ansiolítico asociado a una molécula de anti-conexina.

En este marco, se han estudiado los efectos del diazepam en asociación con un inhibidor de las conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). El diazepam es un ansiolítico, indicado en los episodios de ansiedad excesiva, los insomnios de sueño, los estados neuróticos, las manifestaciones psicósomáticas, las desintoxicaciones alcohólicas y la epilepsia. El diazepam es una benzodiazepina facilitadora de la transmisión Gabaérgica, que presenta una lista considerable de efectos indeseables de las dosis terapéuticas (somnolencia, hipotonía, sensaciones de embriaguez, dificultades de concentración, irritabilidad, agresividad, excitación, confusión, hepatitis, reacciones cutáneas alérgicas, disfagia) y puede conllevar una tolerancia y dependencia que necesita la adaptación de la posología durante las diferentes fases del tratamiento.

7.1. Efecto del diazepam

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental para compararlo con los datos bibliográficos sobre el efecto EEG del diazepam por vía intraperitoneal en la rata en vigilia (Robledo P., *Alcohol Clin Exp Res.* abril de 1994; 18(2)-363-8). Por lo tanto, se han realizado unos registros del efecto del diazepam a la dosis de 1 mg/kg administrada por vía intraperitoneal (1,5 a 5 veces inferiores a la dosis habitualmente utilizada en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG ha puesto en evidencia, a partir de la primera hora, los efectos característicos del diazepam, a saber una ligera disminución de potencia de los componentes de 4 a 7 Hz (aproximadamente el 25% de disminución) y un aumento significativo de potencia de los componentes de 11 a 30 Hz (aproximadamente el 120%). En la segunda hora, estos efectos sobre el 4-7 Hz y el 11-30 Hz perduran disminuyendo en intensidad, y aparece un aumento significativo de potencia de los componentes 1-3 Hz (véase la figura 8).

7.2. Efecto de la asociación diazepam y anti-conexina

Después de validar el modelo experimental, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico del diazepam.

Durante el tratamiento que combina el ansiolítico (diazepam, 1 mg/kg por vía intraperitoneal) y el inhibidor de conexina (MFA, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal), el análisis espectral de EEG pone en evidencia, a partir de la primera hora, un aumento significativo de la potencia para los componentes de 11 a 30 Hz (aproximadamente el 150%) y los componentes 1-3 Hz (aproximadamente el 120%). Este aumento de potencia prosigue en la segunda hora con una amplitud más fuerte para los componentes de 11 a 30 Hz (hasta el 200%)(véase la figura 8).

Este aumento significativo de la potencia de los componentes 1-3 Hz y 11-30 Hz corresponde al espectro del diazepam solo a dosis más fuertes (de 2 a 10 veces la dosis utilizada en el primer ensayo) y corresponde por lo tanto a una potenciación considerable del efecto del diazepam mediante el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, a diferencia del diazepam sólo, la potenciación por la anti-conexina refuerza el efecto en la segunda hora, lo que indica una acción prolongada en el tiempo en presencia de anti-conexina. Esta última observación se distingue del efecto de las moléculas anti-conexinas en combinación con la clozapina, el modafinilo y la paroxetina, no siguiendo exactamente la evolución temporal del diazepam sólo, lo que indica que el sistema de modulación por las conexinas puede ser cuantitativamente diferente de un sistema de neurotransmisión a otro. Así, en el caso del diazepam, el bloqueo del sistema de unión tendría una influencia más fuerte en la segunda hora que en la primera, subrayando que según la organización del sistema de unión dentro de los sistemas de neurotransmisión química, su bloqueo tendrá consecuencias cualitativas y cuantitativas diferentes.

En definitiva, esta potenciación del sistema Gabaérgico confirma la hipótesis de un papel modulador (aparentemente cualitativa y cuantitativamente que depende de su organización dentro de los sistemas de neurotransmisión química) de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estos resultados demuestran una modulación inédita del efecto de ansiolítico por la combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por una potenciación del efecto del ansiolítico que, a una dosis 2 a 10 veces menos importante que la dosis farmacológica, permite obtener, cuando se asocia a la molécula de anti-conexina, el mismo efecto electroencefalográfico que la dosis farmacológica sola. Esta potenciación del efecto del ansiolítico por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de ansiolítico de 2 a 10 veces, y esto con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación diazepam y anti-conexina sería por lo tanto superior a 2.

Ejemplo 8: Efecto de un segundo antidepressivo en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un segundo tratamiento farmacológico antidepressivo asociado a moléculas de anti-conexinas.

En este marco, se han estudiado los efectos de la Venlafaxina en asociación con un inhibidor de las conexinas, el

ácido meclofenámico (MFA). La Venlafaxina es un antidepresivo, indicado en los episodios depresivos mayores del adulto, la prevención de recaídas depresivas en los pacientes que presentan un trastorno unipolar, y la ansiedad generalizada de por lo menos 6 meses en el adulto. La Venlafaxina es un inhibidor de la recaptura de la serotonina y de la noradrenalina, de perfil intermedio, de eficacia comparable a la de los imipramínicos, que presenta una lista considerable de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (náuseas, somnolencia, boca seca, insomnio, vértigo, estreñimiento, sudores, hiponatremia, trastorno de la eyaculación, diarrea, vómitos, aumento de peso, cefaleas, convulsiones, temblores, parestesias, palpitación, trastorno de la acomodación, erupciones cutáneas) y puede conllevar un síndrome de abstinencia cuando se para el tratamiento.

8.1. Efecto de la Venlafaxina

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental con la Venlafaxina sola, en la medida en la que no está disponible ningún dato bibliográfico sobre el efecto EEG de la Venlafaxina en la rata en vigilia; no obstante, diferentes estudios sobre los efectos de la Venlafaxina, en particular sobre las modificaciones del sueño, proporcionan las dosis farmacológicas de Venlafaxina en tratamiento agudo, que son generalmente de 1 a 10 mg/kg por vía intraperitoneal (Salin-Pascual RJ., *Psychopharmacology*. febrero de 1997; 129(3): 295-6).

Se han realizado unos registros del efecto de la Venlafaxina sola a dos dosis, 0,16 mg/kg y 4 mg/kg, administrada por vía intraperitoneal (1 a 25 veces inferiores a la dosis habitualmente utilizada en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG prefrontal pone en evidencia un aumento significativo de la potencia, según la dosis de Venlafaxina, de los componentes de 8 a 10 Hz (aproximadamente el 120% para la dosis de 0,16 mg/kg y del 200% para la dosis del 4 mg/kg), y de los componentes de 16-18 Hz, y en una menor medida los componentes 24-26 Hz a partir de la primera hora y que aumenta en la segunda hora con la aparición de un aumento de potencia de los componentes 1-3 Hz a 4 mg/kg (figura 9).

8.2. Efecto de la asociación diazepam y anti-conexina

Después, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico de la Venlafaxina.

Durante el tratamiento que combina el antidepresivo (Venlafaxina, 0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) y el inhibidor de conexina (MFA, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal), el análisis espectral de EEG pone en evidencia, a partir de la primera hora, un aumento significativo de la potencia para los componentes de 8 a 10 Hz (aproximadamente el 350%), los componentes 16-18 Hz (aproximadamente el 200%) y los componentes 24-26 Hz (aproximadamente el 180%). Este aumento de potencia prosigue en la segunda hora con una disminución de la amplitud en los diferentes componentes (mayoritariamente para los componentes 8-10 Hz, salvo para los componentes 1-3 Hz para los cuales se observa un aumento significativo de potencia (véase la figura 9).

Este aumento significativo de la sincronización corresponde al espectro de la Venlafaxina sola y corresponde por lo tanto a una potenciación considerable del efecto de la Venlafaxina mediante el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, a diferencia de la Venlafaxina sola, la potenciación por la anti-conexina refuerza el efecto en la primera hora y disminuye en la segunda (permaneciendo al mismo tiempo superior al tratamiento de Venlafaxina sola), lo que indica una acción rápida que se prolonga en el tiempo en presencia de anti-conexina. Esta última observación se acerca a la observación de los resultados de la asociación con el diazepam, y se distingue del efecto de las anti-conexinas en combinación con la clozapina, el modafinilo y la paroxetina, no siguiendo exactamente la evolución temporal de la Venlafaxina sola, lo que confirma que el sistema de modulación por las conexinas puede ser cuantitativamente diferente de un sistema de neurotransmisión a otro. Así, en el caso de la Venlafaxina, se confirma la noción de que el bloqueo del sistema de unión tendría unas consecuencias cualitativas y cuantitativas diferentes según su organización dentro de los sistemas de neurotransmisión química.

En definitiva, esta potenciación de los sistemas serotoninérgico y noradrenérgico confirma la hipótesis de un papel modulador mayor de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estos resultados demuestran una modulación inédita del efecto del antidepresivo por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por una potenciación del efecto del antidepresivo que, a una dosis 25 veces menos importante que la dosis farmacológica habitualmente utilizada, permite obtener, cuando se asocia a las moléculas anti-conexinas, el mismo efecto electroencefalográfico que el antidepresivo solo (a la dosis farmacológica). Esta potenciación del efecto del antidepresivo por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de antidepresivo en por lo menos 25 veces, con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación Venlafaxina y anti-conexina sería por lo tanto superior a 25.

Ejemplo 9: Efecto de un tercer antidepresivo en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un tercer tratamiento farmacológico

antidepresivo asociado a moléculas de anti-conexinas.

En este marco, se han estudiado los efectos del escitalopram en asociación con un inhibidor de las conexinas, el ácido meclofenámico (MFA). El escitalopram es un antidepresivo, indicado en los episodios depresivos mayores, la prevención de ataques de pánico con o sin agorafobia. El escitalopram es un inhibidor puro de la recaptura de la serotonina, de perfil intermedio, de eficacia comparable a la de los imipramínicos, que presenta una lista considerable de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (náuseas, cefaleas, insomnio, estreñimiento, somnolencia, sudores, trastorno de la eyaculación, diarrea, vómitos, vértigos, temblores, parestias, palpitación, hipotensión ortostática, prurito).

9.1. Efecto del escitalopram

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental en la medida en la que no está disponible ningún dato bibliográfico sobre el efecto EEG del escitalopram en la rata en vigilia; no obstante, diferentes estudios sobre los efectos del escitalopram, en particular sobre las modificaciones EEG del sueño, proporcionan las dosis farmacológicas de escitalopram en tratamiento agudo, que son generalmente de 1 a 10 mg/kg por vía intraperitoneal (Sanchez C. *Pharmacol Biochem Behav.* marzo de 2007; 86(3): 468-76).

Se han realizado unos registros del efecto del escitalopram solo a dos dosis, 0,8 mg/kg y 4 mg/kg, administradas por vía intraperitoneal (es decir de 1 a 5 veces inferiores a la dosis habitualmente utilizada en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG prefrontales pone en evidencia un aumento significativo de la potencia, según la dosis de escitalopram, de los componentes de 6 a 8 Hz (aproximadamente el 150% para la dosis de 0,8 mg/kg y del 200% para la dosis del 4 mg/kg), y de los componentes de 14-16 Hz, y en una menor medida los componentes 22-24 Hz a partir de la primera hora y que disminuye en la segunda hora (véase la figura 10).

9.2. Efecto de la asociación escitalopram y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico del escitalopram.

Durante el tratamiento que combina el antidepresivo (Escitalopram, 0,8 mg/kg por vía intraperitoneal) y el inhibidor de conexina (MFA, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal), el análisis espectral de EEG pone en evidencia, a partir de la primera hora, un aumento significativo de la potencia para los componentes de 6 a 8 Hz (aproximadamente el 450%), los componentes 14-16 Hz (aproximadamente el 230%) y los componentes 22-24 Hz (aproximadamente el 140%). Este aumento de potencia prosigue en la segunda hora con una disminución de la amplitud en los diferentes componentes (mayoritariamente para los componentes 8-10 Hz (véase la figura 10).

Este aumento significativo de la sincronización corresponde perfectamente al espectro del escitalopram solo y corresponde por lo tanto a una potenciación considerable del efecto del escitalopram mediante el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, a diferencia de la clozapina, de la paroxetina y del modafinilo, este mecanismo de refuerzo del efecto del escitalopram por la anti-conexina sigue la misma evolución temporal que el escitalopram sólo. En efecto, el escitalopram solo o en asociación con la anti-conexina conlleva unos efectos EEG que son máximos en la primera hora y se atenúan en la segunda hora. Así, la potenciación por la anti-conexina del escitalopram conserva las propiedades de evolución temporales y refuerza la noción de un sistema de modulación por las conexinas no limitado a un solo sistema de neurotransmisión.

En definitiva, esta potenciación de los sistemas serotoninérgico confirma la hipótesis de un papel modulador de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estos resultados demuestran otra vez la modulación del efecto del antidepresivo por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por una potenciación del efecto del antidepresivo que, a una dosis 5 veces menos importante que la dosis farmacológica, es capaz, cuando se asocia a una molécula de anti-conexina, de generar el mismo efecto electroencefalográfico que el antidepresivo solo (a la dosis farmacológica). Esta potenciación del efecto del antidepresivo por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de antidepresivo de por lo menos 5 veces, y esto con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación escitalopram y anti-conexina sería por lo tanto superior a 5.

Ejemplo 10: Efecto de un cuarto antidepresivo en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un cuarto tratamiento farmacológico antidepresivo asociado a moléculas de anti-conexinas.

En este ámbito, se han estudiado los efectos del Bupropión en asociación con un inhibidor de las conexinas, el ácido

meclofenámico (MFA). El Bupropión es un antidepresivo, indicado para la ayuda al síndrome de abstinencia tabáquico en los sujetos que presentan una dependencia a la nicotina. El Bupropión es un inhibidor de la recaptura de la noradrenalina y dopamina, que presenta una lista considerable de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (erupciones cutáneas, prurito, fiebre, náuseas, cefaleas, insomnio, vértigo, estreñimiento, vómitos, ataxia, acufeno, confusión mental, trastornos visuales).

10.1. Efecto del Bupropión

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental en la medida en la que no está disponible ningún dato bibliográfico sobre el efecto EEG del Bupropión en la rata en vigilia; no obstante, diferentes estudios sobre los efectos del Bupropión, en particular sobre las modificaciones EEG del sueño, proporcionan las dosis farmacológicas de Bupropión en tratamiento agudo, que son generalmente de 5 a 150 mg/kg por vía intraperitoneal (Henshall DC., *Neuropsychiatr Dis Trat.* 2009; 5:189-206).

Se han realizado unos registros del efecto del Bupropión solo a tres dosis, 0,16 mg/kg 0,8 mg/kg y 4 mg/kg, administradas por vía intraperitoneal (de 10 a 150 veces inferiores a la dosis habitualmente utilizada en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG prefrontales pone en evidencia un aumento significativo de la potencia, según la dosis de Bupropión, de los componentes de 8 a 10 Hz (aproximadamente el 180% para la dosis de 0,16 mg/kg, del 450% para la dosis de 0,8 mg/kg y del 280% para la dosis del 4 mg/kg), y de los componentes de 15-18 Hz, y en una menor medida los componentes 23-25 Hz a partir de la primera hora. En la segunda hora, se observa un aumento significativo con respecto a la primera hora para los mismos componentes para las dosis de 0,16 mg/kg y de 4 mg/kg, mientras que el efecto se atenúa para la dosis de 0,8 mg/kg (figura 11).

Esto indica un efecto-dosis del Bupropión en "U" inversa en la primera hora (tal como se esquematiza en la figura 13 para la Sertralina) y un efecto de dosis clásica en la segunda hora.

Estos efectos complejos en el tiempo que siguen la dosis sugieren la intervención de diferentes sistemas de neurotransmisión o grupos de neuronas en función de la dosis de Bupropión.

10.2. Efecto de la asociación Bupropión y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico del Bupropión.

Durante el tratamiento que combina el antidepresivo (Bupropión, 0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) y el inhibidor de conexina (MFA, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal), el análisis espectral de EEG pone en evidencia, a partir de la primera hora, un aumento significativo de la potencia para los componentes de 8 a 10 Hz (aproximadamente el 400%), los componentes 15-18 Hz (aproximadamente el 230%) y los componentes 23-25 Hz (aproximadamente el 140%). Este aumento de potencia prosigue en la segunda hora con una disminución de la amplitud en los diferentes componentes (mayoritariamente para los componentes 8-10 Hz y 15-18 Hz)(véase la figura 11).

Este aumento significativo de la sincronización corresponde perfectamente al espectro del Bupropión solo a la dosis de 0,8 mg/kg de Bupropión sólo, y significa por lo tanto una potenciación considerable del efecto del Bupropión mediante el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, este mecanismo de refuerzo del efecto del Bupropión por la anti-conexina sigue la misma evolución temporal que el Bupropión solo a una dosis más elevada, teniendo en cuenta la complejidad de la evolución temporal de los efectos del Bupropión en función de la dosis, anteriormente señalada (10.1). En efecto, el Bupropión solo a la dosis de 0,8 mg/kg o a una dosis baja (0,16 mg/kg) en asociación con la anti-conexina conlleva unos efectos EEG que son máximos en la primera hora y se atenúan en la segunda hora. Así, la potenciación particular del Bupropión por la anti-conexina confirma y refuerza la noción de un sistema de modulación por las conexinas no limitado a un solo sistema de neurotransmisión.

En definitiva, esta potenciación de los sistemas noradrenérgico y dopaminérgicos confirma la hipótesis de un papel modulador de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estos resultados demuestran otra vez la modulación del efecto de un antidepresivo como el Bupropión por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por una potenciación del efecto del antidepresivo que, a una dosis 5 veces menos importante que la dosis farmacológica, genera los mismos efectos electroencefalográficos que a la dosis farmacológica cuando se administra en asociación con la molécula anti-conexina. Esta potenciación del efecto del antidepresivo por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de Bupropión en por lo menos 5 veces, y esto con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación Bupropión y anti-conexina sería por lo tanto superior a 5.

Ejemplo 11: Efecto de un quinto antidepresivo en combinación con un inhibidor de conexinas

Con el fin de proseguir la evaluación de la hipótesis de un papel modulador global de las conexinas en la actividad cerebral, se han estudiado las consecuencias electrofisiológicas de un quinto tratamiento farmacológico antidepresivo asociado a moléculas de anti-conexinas. En este ámbito, se han estudiado los efectos de la sertralina en asociación con un inhibidor de las conexinas, el ácido meclofenámico (MFA).

La sertralina es un antidepresivo, indicado en los estados depresivos mayores del adulto, los trastornos obsesivos compulsivos del adulto y del niño, y la prevención de recaídas depresivas en los pacientes que presentan un trastorno unipolar. La Sertralina es un inhibidor específico de la recaptura de la serotonina, que presenta una lista considerable de efectos indeseables a las dosis terapéuticas (eritemas cutáneos, prurito, náuseas, cefaleas, insomnio, vértigo, vómitos, trastornos extrapiramidales, trastornos de la eyaculación, estreñimiento, trastornos visuales, taquicardia).

11.1. Efecto de la sertralina

En una primera fase, se ha evaluado el modelo experimental en la medida en la que no está disponible ningún dato bibliográfico sobre el efecto EEG de la sertralina en la rata en vigilia; no obstante, diferentes estudios sobre los efectos de la sertralina, en particular sobre las modificaciones EEG del sueño, proporcionan las dosis farmacológicas de Sertralina en tratamiento agudo, que son generalmente de 4 a 40 mg/kg por vía intraperitoneal (Freo U., *Neurosci Lett.* 2008; 436(2): 148-52).

Se han realizado unos registros del efecto de la sertralina sola a tres dosis, 0,16 mg/kg 0,8 mg/kg y 4 mg/kg, administradas por vía intraperitoneal (1 a 25 veces inferiores a la dosis habitualmente utilizada en tratamiento agudo en la rata).

El análisis espectral de EEG prefrontales pone en evidencia un aumento significativo de la potencia, según la dosis de Sertralina, de los componentes de 7 a 9 Hz (aproximadamente del 260% para la dosis de 0,16 mg/kg y para la dosis de 0,8 mg/kg y del 150% para la dosis del 4 mg/kg), y de los componentes de 14-17 Hz, y en una menor medida los componentes 23-25 Hz a partir de la primera hora. En la segunda hora, se observa un aumento significativo con respecto en la primera hora para los mismos componentes para las dosis de 0,8 mg/kg (900%) y de 4 mg/kg (450%), mientras que el efecto se atenúa para la dosis de 0,16 mg/kg (figura 12).

Esto indica un efecto-dosis de la sertralina en "U" inversa mayoritariamente en la segunda hora (tal como se esquematiza en la figura 13). Estos efectos complejos en el tiempo que siguen la dosis, como para el Bupropión, sugieren la intervención de diferentes sistemas de neurotransmisión o grupos de neuronas en función de la dosis de Sertralina.

11.2. Efecto de la asociación Bupropión y anti-conexina

En una segunda fase, se ha estudiado la influencia del sistema de unión de las conexinas sobre el efecto electrofisiológico de la sertralina.

Durante el tratamiento que combina el antidepresivo (Sertralina, 0,16 mg/kg por vía intraperitoneal) y el inhibidor de conexina (MFA, 0,4 mg/kg por vía intraperitoneal), el análisis espectral de EEG pone en evidencia, a partir de la primera hora, un aumento significativo de la potencia para los componentes de 7 a 9 Hz (aproximadamente el 400%), los componentes 14-17 Hz (aproximadamente el 300%) y los componentes 23-25 Hz (aproximadamente el 160%). Este aumento de potencia prosigue en la segunda hora con un aumento considerable de la amplitud en los diferentes componentes (mayoritariamente para los componentes 7-9 Hz (aproximadamente el 1000%) y 14-17 Hz (aproximadamente el 700%) (figura 12).

Este aumento significativo de la sincronización en la segunda hora corresponde al espectro de la sertralina sola a la dosis de 0,8 mg/kg de sertralina sola, y significa por lo tanto una potenciación considerable del efecto de la sertralina mediante el bloqueo del sistema de unión de las conexinas. Además, este mecanismo de refuerzo del efecto de la sertralina por la anti-conexina sigue la misma evolución temporal que de la sertralina sola a una dosis más elevada, teniendo en cuenta la complejidad de la evolución temporal de los efectos de la sertralina en función de la dosis, anteriormente señalada (11.1).

En efecto, la sertralina sola a la dosis de 0,8 mg/kg o a una dosis baja (0,16 mg/kg) en asociación con la anti-conexina conlleva unos efectos EEG que son máximos en la segunda hora. Así, la potenciación particular de la sertralina por la anti-conexina confirma y refuerza la noción de un sistema de modulación por las conexinas no limitado a un solo sistema de neurotransmisión.

En definitiva, esta potenciación del sistema serotoninérgico confirma la hipótesis de un papel modulador de las actividades electrofisiológicas por el sistema de unión de las conexinas.

Por último, estos resultados demuestran de nuevo la modulación del efecto de un antidepresivo (la sertralina) por su combinación con un inhibidor de conexina. Esta modulación se manifiesta por una potenciación del efecto del antidepresivo a una dosis 5 veces menos importante que la dosis farmacológica. Esta potenciación del efecto del antidepresivo por la anti-conexina permitiría por lo tanto reducir las dosis de sertralina en por lo menos 5 veces, con el mínimo de efecto propio de la anti-conexina. El beneficio de dosis medido de la asociación sertralina y anti-conexina sería por lo tanto superior a 5.

Bibliografía

- 10 Alldredge BT.: *J Clin Pathol*. 12 de mayo de Mayo;
Bai D, *J Pharmacol Exp Ther*, diciembre de 2006; 319(3):1452-8
Burt JM, *et al.*, *Circ Research*. 1989; 65:829-37
Chaytor AT *et al.*, *J. Physiol* 1997; 503:99-110
Dahl G. *et al.*, *Biophys J*, 1994; 67:1816-22
- 15 De saint Hilaire Z., *Neuroreport*. 16 de noviembre de 2001;12(16):3533-7
Dimpfel W, *British Journal of Pharmacology* 2007, 152, 538-548
Fabrizi GM, *Brain* febrero de 2007, 130(Pt2):394-403
Figueroa XF, Alvina K, Martinez AD, *et al.*: *Microvasc Res*. 2004; 68:247-57
Freo U., *Neurosci Lett*. 2008; 436(2): 148-52
- 20 Fukuda T., *Neuroscientist* 2007; 13(3):199-207
Galderisi S, *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 2002, 24, 85-89
Giepmans BN.: *Cardiovasc Res*. 2004;62:233-45
Guan X. *et al.*, *J. Cell Biol* 1997; 139:1785-92
Harks EG, *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, septiembre de 2001, 298(3): 1033-41
- 25 Henshall DC., *Neuropsychiatr Dis Trat*. 2009; 5:189-206
Hofer A *et al.*, *Glia* 1998; 24:141-54
Kale AY 2006, *Brain Research Bulletin*, 15 de julio de 2006; 135 (1-2):1-6
Kola I, *Nat Rev Drug Discov*. agosto de 2004; 3(8):711-5.
- Lai-Cheong JE, Arita K & McGrath JA.: *J Invest Dermatol*. 2007;127:2713-25,
- 30 Locke D. *et al.*, *J Biol Chem* 2004; 279:22883-92
Mandema & Danhof, *Clin. Pharmacokinet*. 1992, 23, 191-215
Meda P, *Médecine/Sciences* 1996; 12:909-920
Meyer RA, *J. Cell Biol*. 1992; 119: 179-89
Negri L, *The Journal of Neuroscience*, 21 de junio de 2006; 26(25):6716-27
- 35 Pan F, *Vis Neurosciences*, julio-agosto de 2007; 24(4):609-18
Postma FR, *J Cell Biol*, 9 de marzo de 1998,140(5):1199-209;
Robledo P., *Alcohol Clin Exp Res*. abril de 1994; 18(2):363-8
Salameh A, *Biochimica y Biophysica Acta* 1719 (2005) 36-58
Salin-Pascual RJ., *Psychopharmacology*. febrero de 1997; 129(3):295-6
- 40 Sanchez C., *Pharmacol Biochem Behav*. marzo de 2007; 86(3):468-76
Scemes E, *Glia*, 15 de enero de 2008, 56(2):145-53;
Sebban C., *British Journal of Pharmacology* (1999)
Shaw RM, *Cell*, 9 de febrero de 2007, 128(3):547-60;
Srinivas M, *Molecular Pharmacology*, junio de 2003, 63(6): 1389-97
- 45 Srinivas M, *PNAS*, 2001, 98:10942-10947;
Tejwani GA, *Brain Res*. 29 de junio de 1998; 797(2):305-12
Wellershaus K, *Exp Cell Res*. 2008
Winneker RC, *Steroids*. noviembre de 2003; 68(10-13):915-20
Yao J, Hiramatsu N, Zhu Y, *et al.*: *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16:58-67;
- 50 Yao J, Morioka T & Oite T.: *Kidney Int*. 2000; 57:1915-26.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Producto que contiene por lo menos un agente que bloquea las conexinas y un fármaco psicotrópico, como productos de combinación para una utilización simultánea, separada o espaciada en el tiempo, en pacientes que sufren trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.
- 10 2. Producto según la reivindicación 1, caracterizado porque el agente que bloquea las conexinas se selecciona de entre el grupo que comprende el ácido meclofenámico, el ácido 18-β-glicirretínico, la mefloquina y el 2-APB, y es preferentemente el ácido meclofenámico.
- 15 3. Producto según una de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector dopaminérgico, GABAérgico, adrenérgico, acetilcolinérgico, serotoninérgico, opiodérgico, adenosinérgico, ionotrópico, histaminérgico, IMAO, catecol-O-metiltransferasa, DOPA descarboxilasa, noradrenérgico.
- 20 4. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector dopaminérgico seleccionado de entre la loxapina, la acepromazina, el metilfenidato, la amantadina, la pergolida, la lisurida, la bromocriptina, el ropinirol, la apomorfina, el aripiprazol, la sulpirida, la amisulprida, la sultoprida, la tiaprida, la pimozida, la risperidona, el haloperidol, el penfluridol, el zuclopentixol o el bupropión.
- 25 5. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector GABAérgico seleccionado de entre la tiagabina, el topiramato, el clorazepato, el diazepam, el clonazepam, el oxazepam, el lorazepam, el bromazepam, el lormetazepam, el nitrazepam, el clotiazepam, el alprozolam, el estazolam, el triazolam, el loprazolam, la etifoxina, el meprobamato, la zopiclona, el zolpidem, el fenobarbital, el felbamato, la vigabatrina.
- 30 6. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector adrenérgico seleccionado de entre la dihidroergotamina, el modafinilo, el adrafinil, la mirtazapina, la oxetorona.
- 35 7. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector acetilcolinérgico seleccionado de entre la sulbutiamina, la tropatepina, el trihexilfenidilo.
- 40 8. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector serotoninérgico seleccionado de entre la clorpromazina, la trimipramina, la clozapina, la olanzapina, la ciamemazina, el flupentixol, el nefopam, la fluvoxamina, la clomipramina, la sertralina, la fluoxetina, el citalopram, el escitalopram, la paroxetina, la amitriptilina, la duloxetina, la venlafaxina, la buspirona, la carpipramina, el zolmitriptano, el sumatriptano, el naratriptano, la indoramina, la ergotamina, el tartrato de ergotamina, el pizotifeno, la pipamperona, la metisergida, la pizotilina, la tianeptina, el milnacipran, la amitriptilina, la trimipramina, la viloxazina, la tianeptina, el hipérico, el litio.
- 45 9. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector opiodérgico seleccionado de entre la nalbufina, la buprenorfina, la petidina, la codeína, el tramadol, la morfina, la hidromorfona, la oxicodona, la metadona, el dextropropoxifeno, la meperidina, el fentanilo, la naltrexona, el clorhidrato de morfina.
- 50 10. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector adenosinérgico seleccionado de entre la carbamazepina, la oxcarbazepina.
- 55 11. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector ionotrópico seleccionado de entre la flunarizina, la etosuximida, el levetiracetam, la lamotrigina, la fosfenitoína, la fenitoína.
- 60 12. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico es un efector histaminérgico seleccionado de entre la niaprazina, la hidroxizina y la doxilamina, o un efector monoamina oxidasa seleccionado de entre la moclobemida, la selegilina y la iproniazida, o un efector catecol-O-metiltransferasa seleccionado de entre la entacapona y la tolcapona, o un efector DOPA descarboxilasa seleccionado de entre la benserazida y la carbidopa, o un efector noradrenérgico seleccionado de entre la mianserina, la desipramina, la moclobemida o el bupropión, o un efector que actúa a nivel del sistema límbico seleccionado de entre la gabapentina y la captodiamina.
- 65 13. Producto según la reivindicación 3, caracterizado porque el fármaco psicotrópico se selecciona de entre el grupo que comprende la clozapina, el modafinilo, la paroxetina, el diazepam, el escitalopram, la sertralina, la venlafaxina y el bupropión.
14. Utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas para preparar un medicamento destinado a ser administrado antes, al mismo tiempo o después de un fármaco psicotrópico, en particular tal como el definido en una de las reivindicaciones 1 a 13, para tratar a un paciente que padece trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.
15. Utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas según la reivindicación 14, para potenciar el efecto de un fármaco psicotrópico en pacientes que padecen trastornos psiquiátricos y/o neurodegenerativos.

16. Utilización de por lo menos un agente que bloquea las conexinas según las reivindicaciones 14 o 15, para disminuir las dosis de dicho fármaco psicotrópico y/o limitar los efectos secundarios de dicho fármaco psicotrópico, y/o reducir los efectos de escape y de abstinencia.

Figura 1

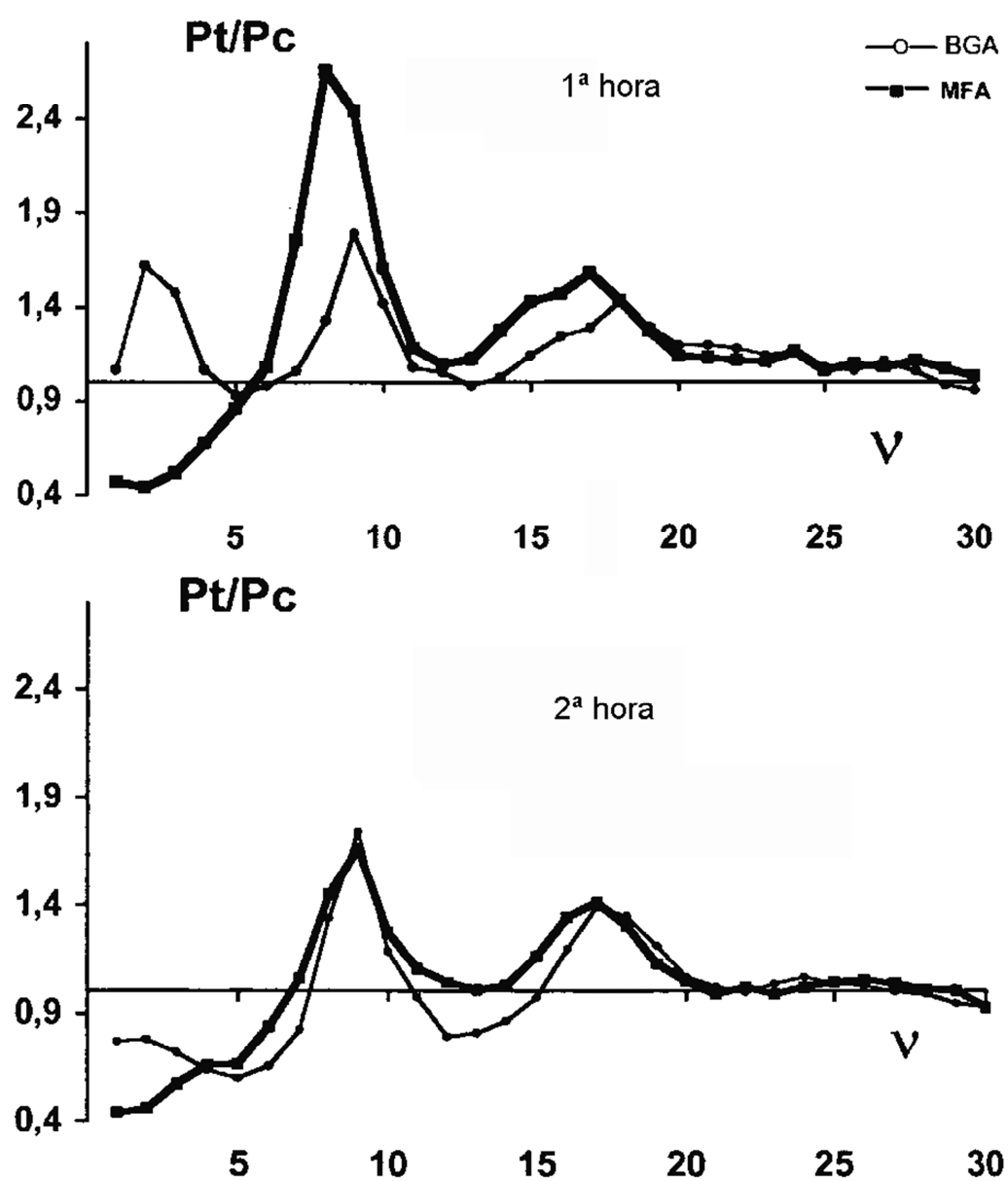


Figura 2

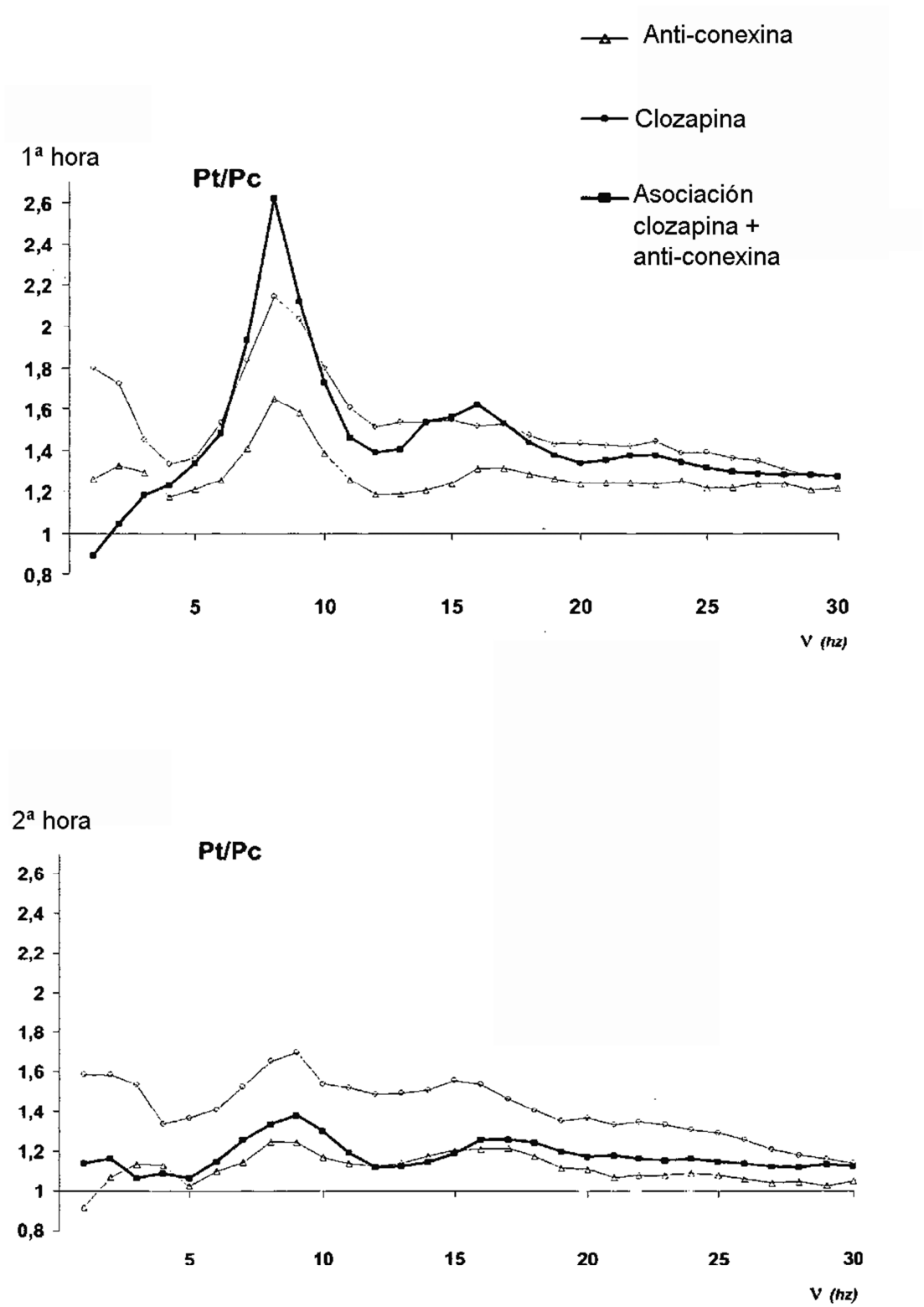


Figura 3

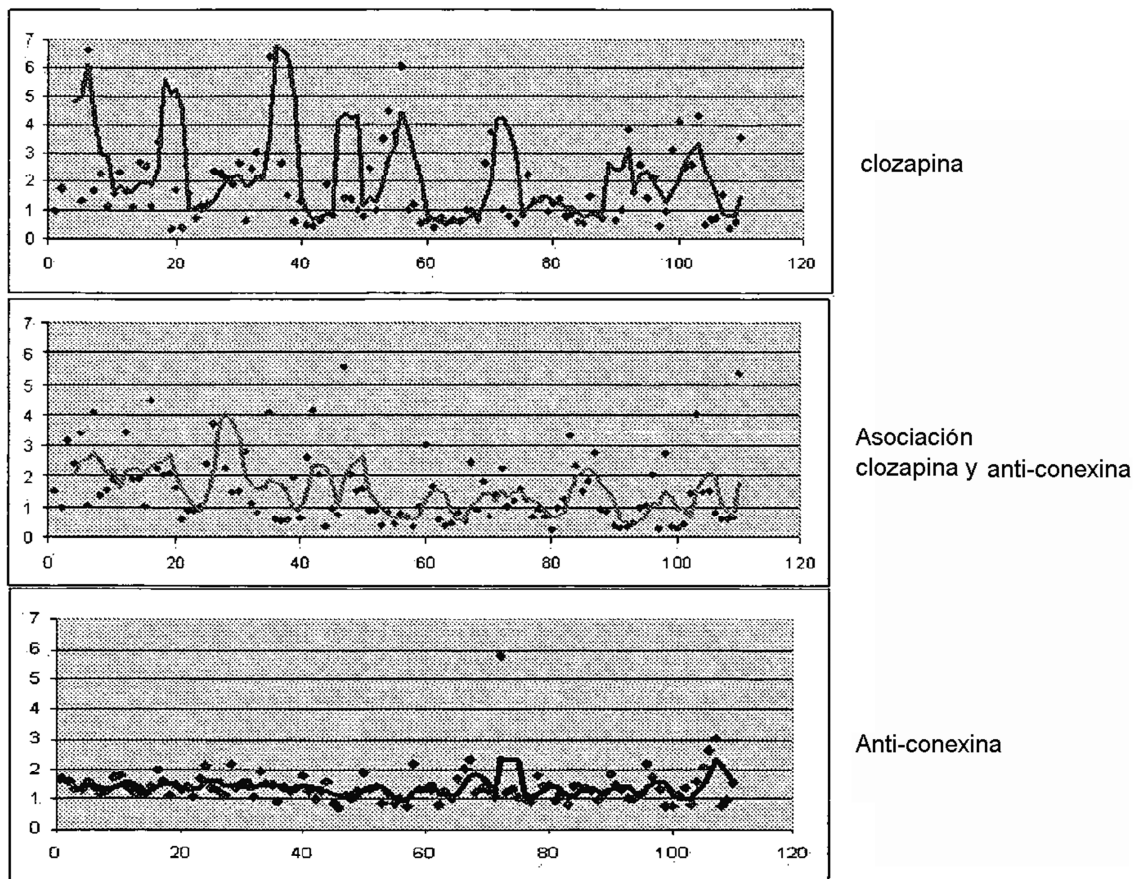


Figura 4

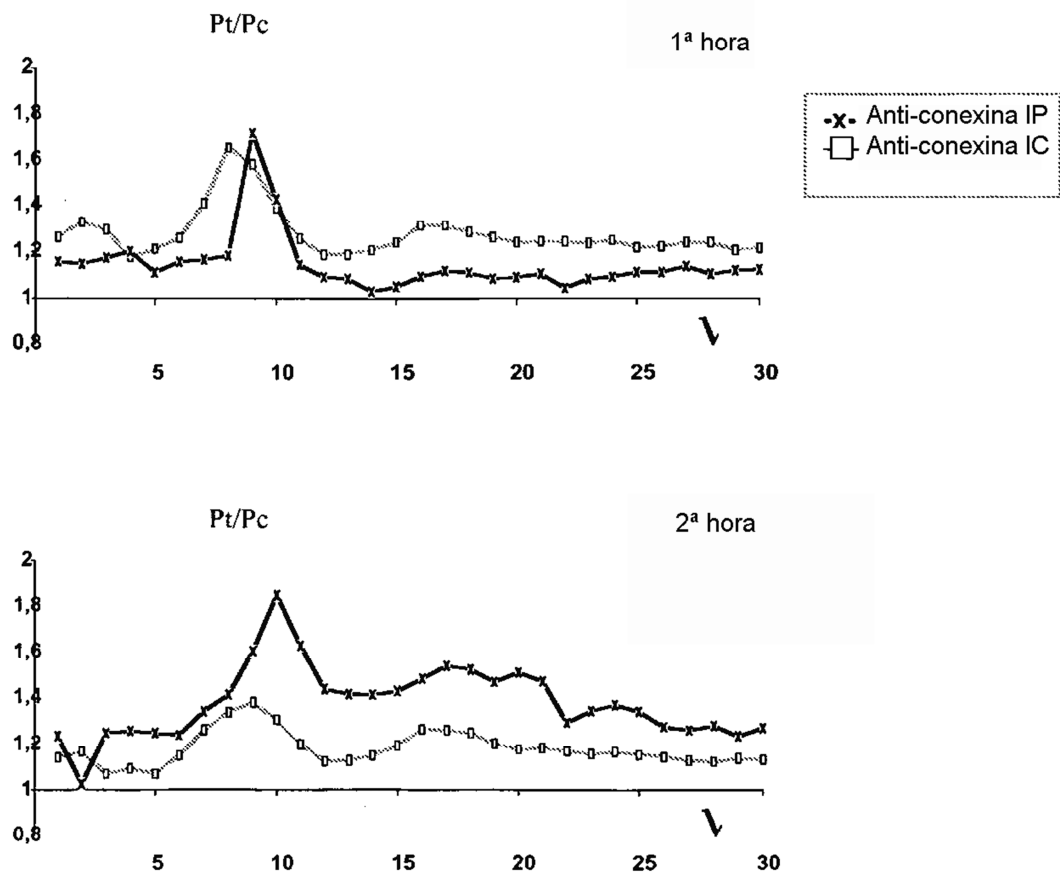


Figura 5

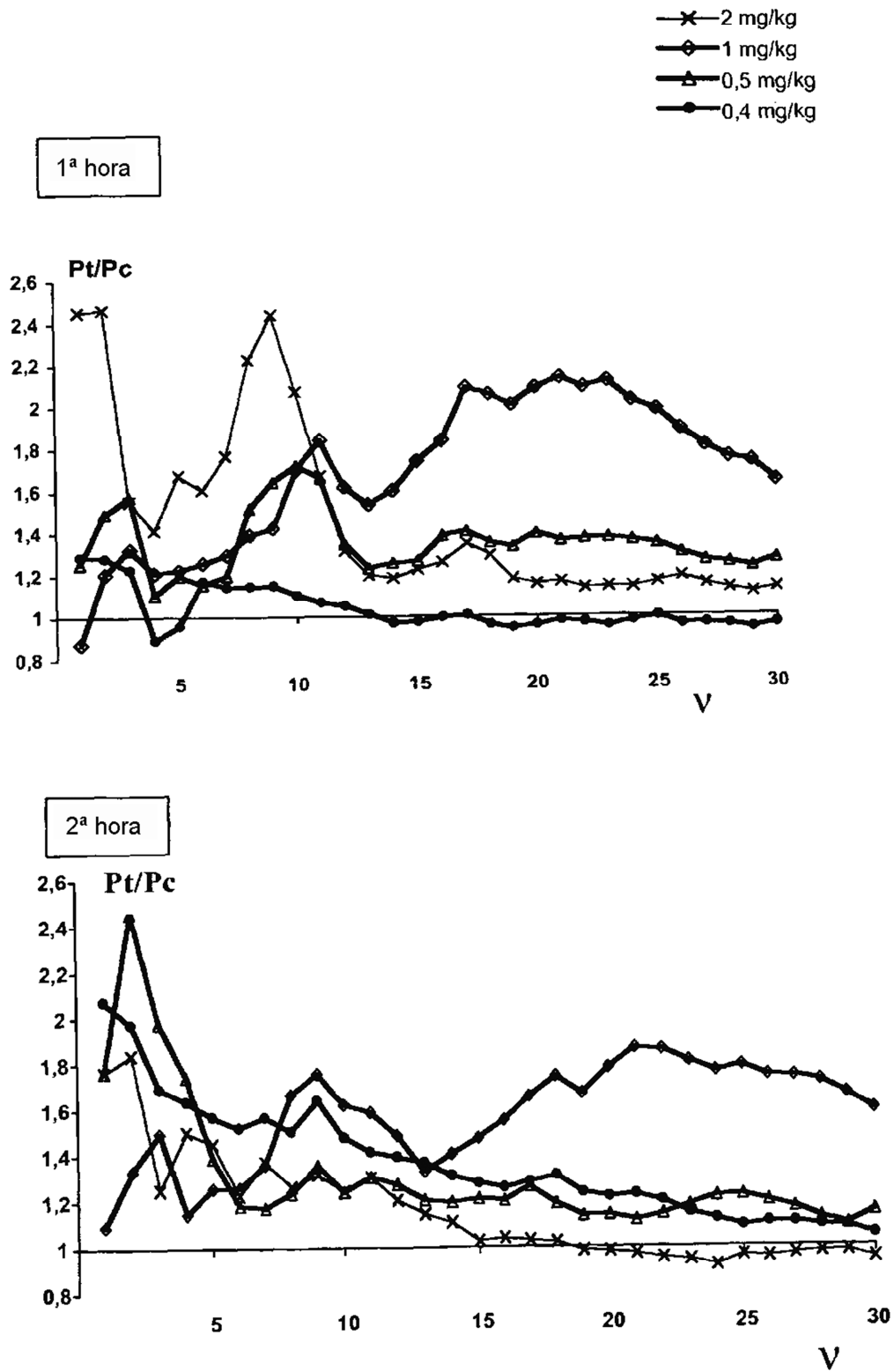


Figura 6

- ▲— Anti-conexina
(0,4mg/kg)
- Paroxetina
(0,5mg/kg)
- Asociación
paroxetina + anti-conexina

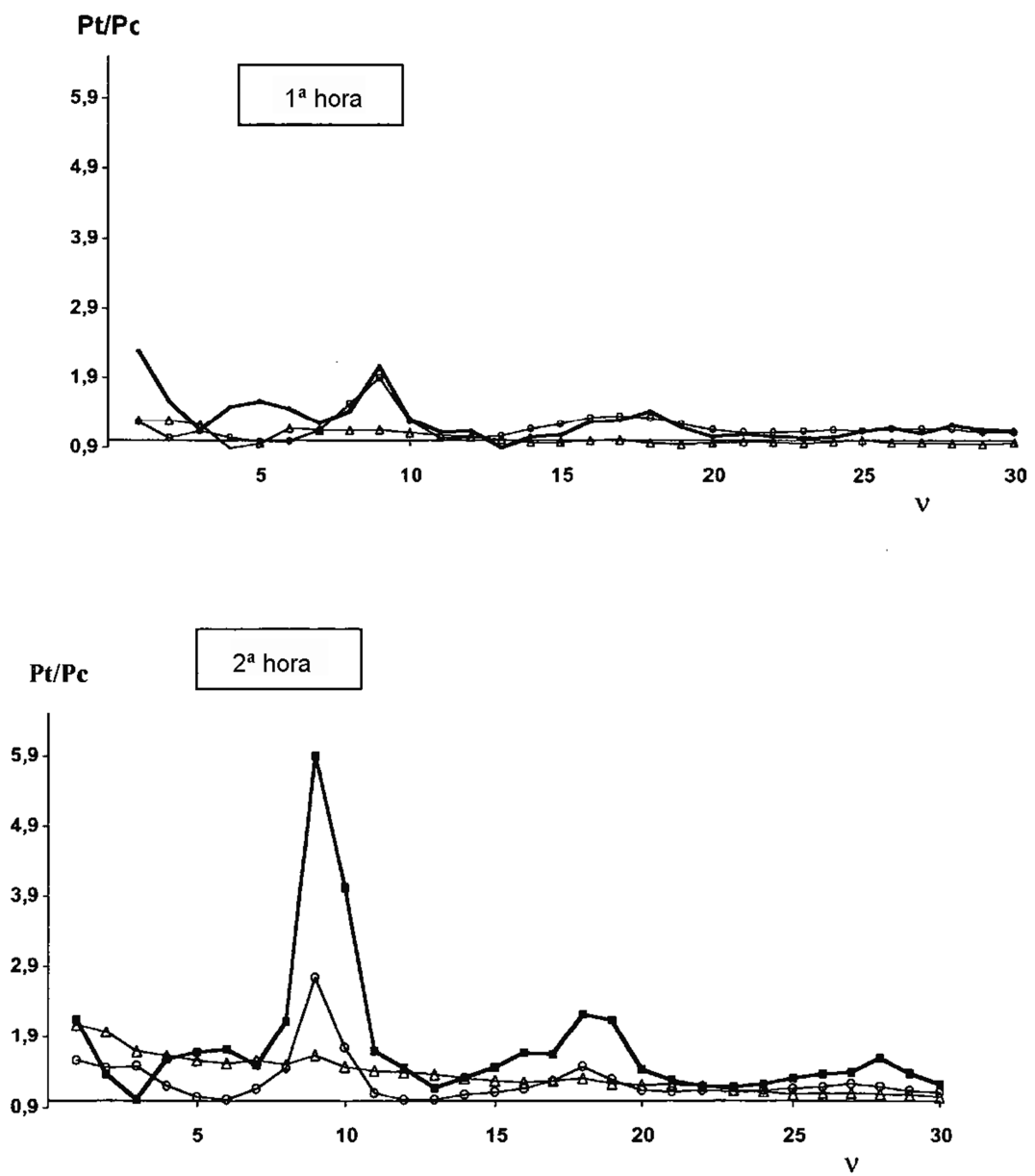


Figura 7

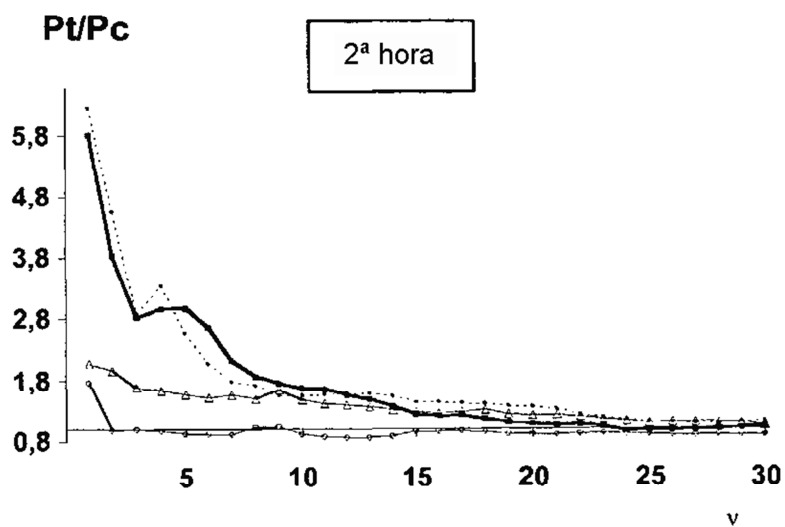
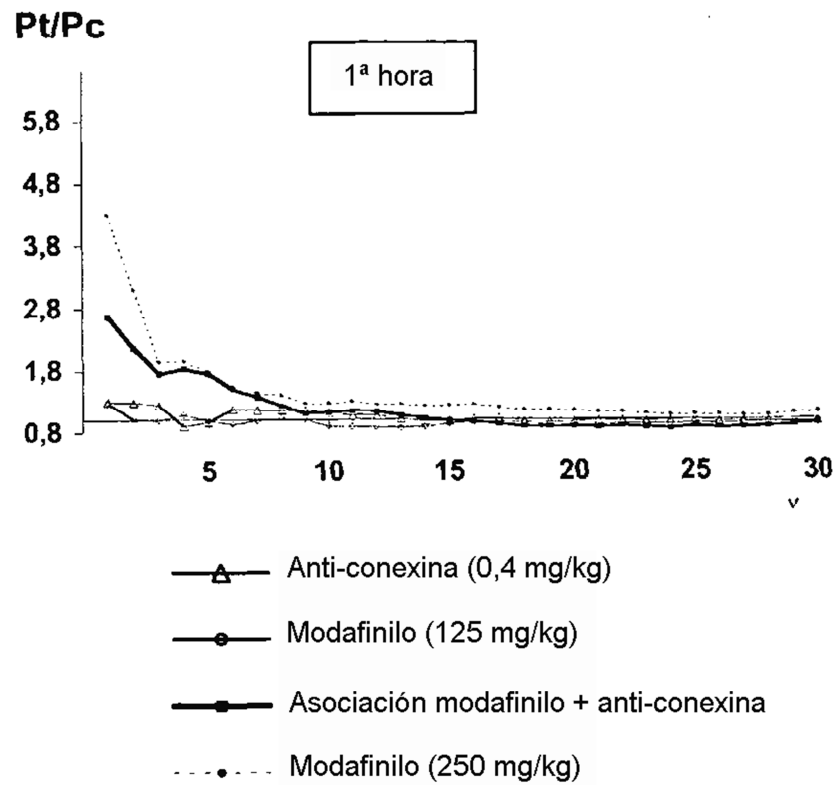


Figura 8

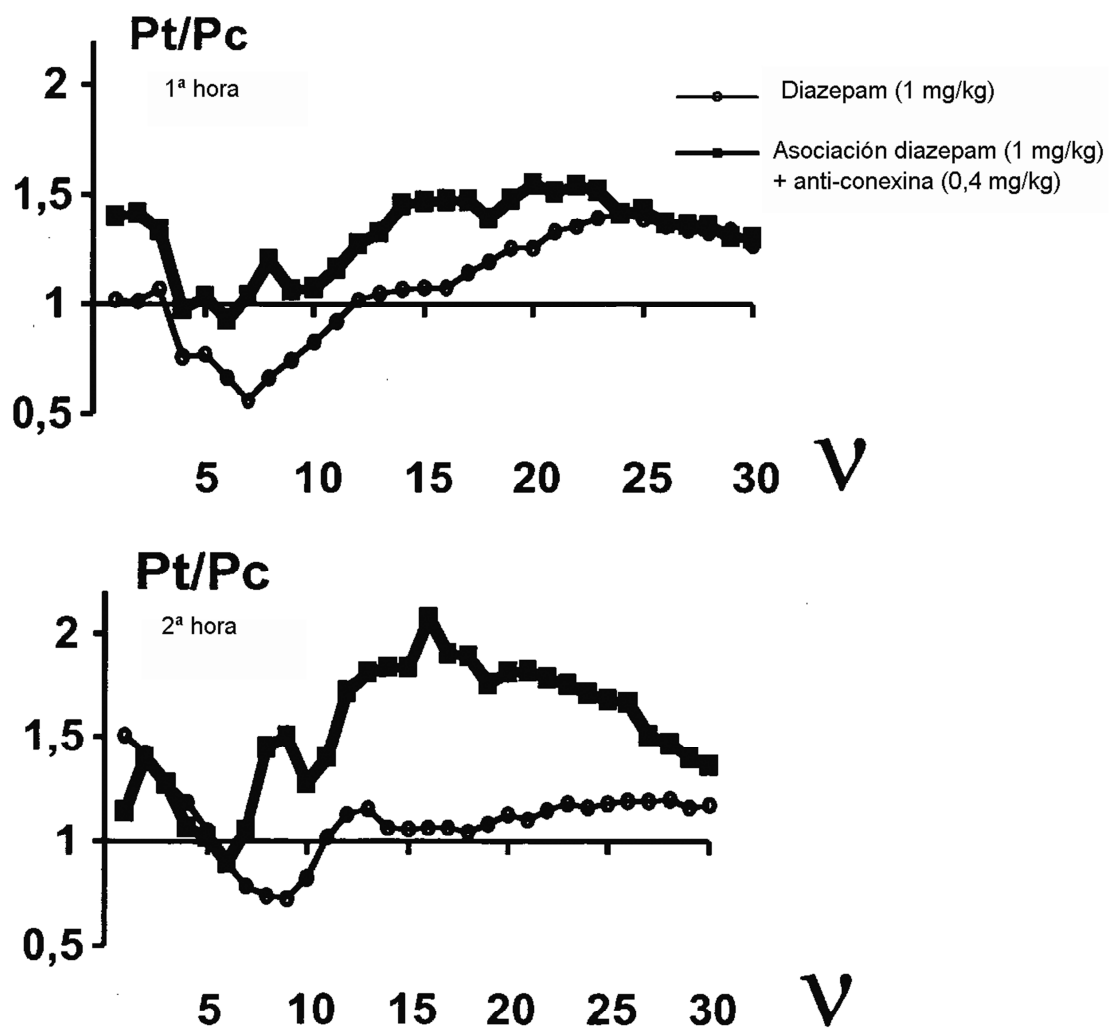


Figura 9

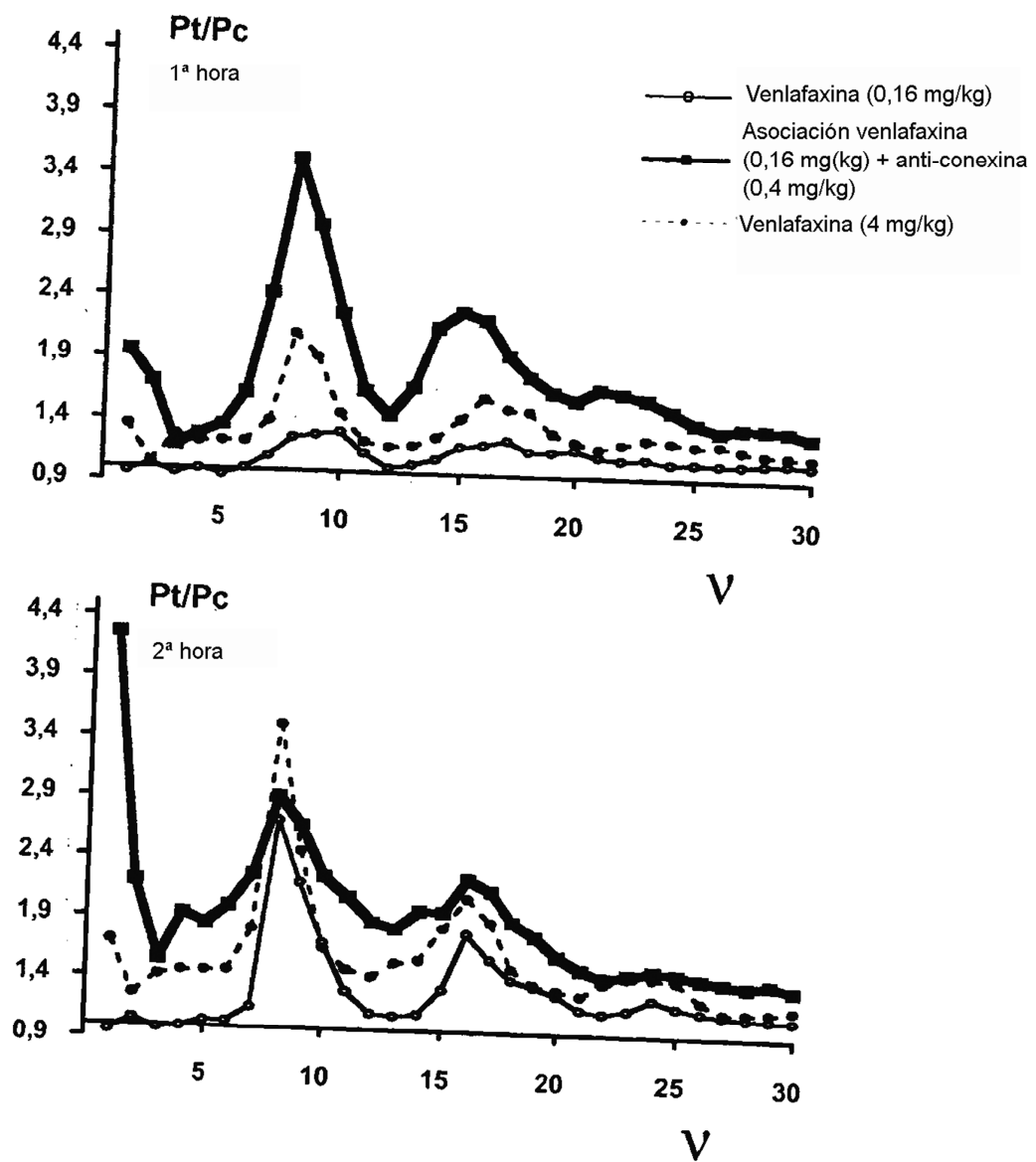


Figura 10

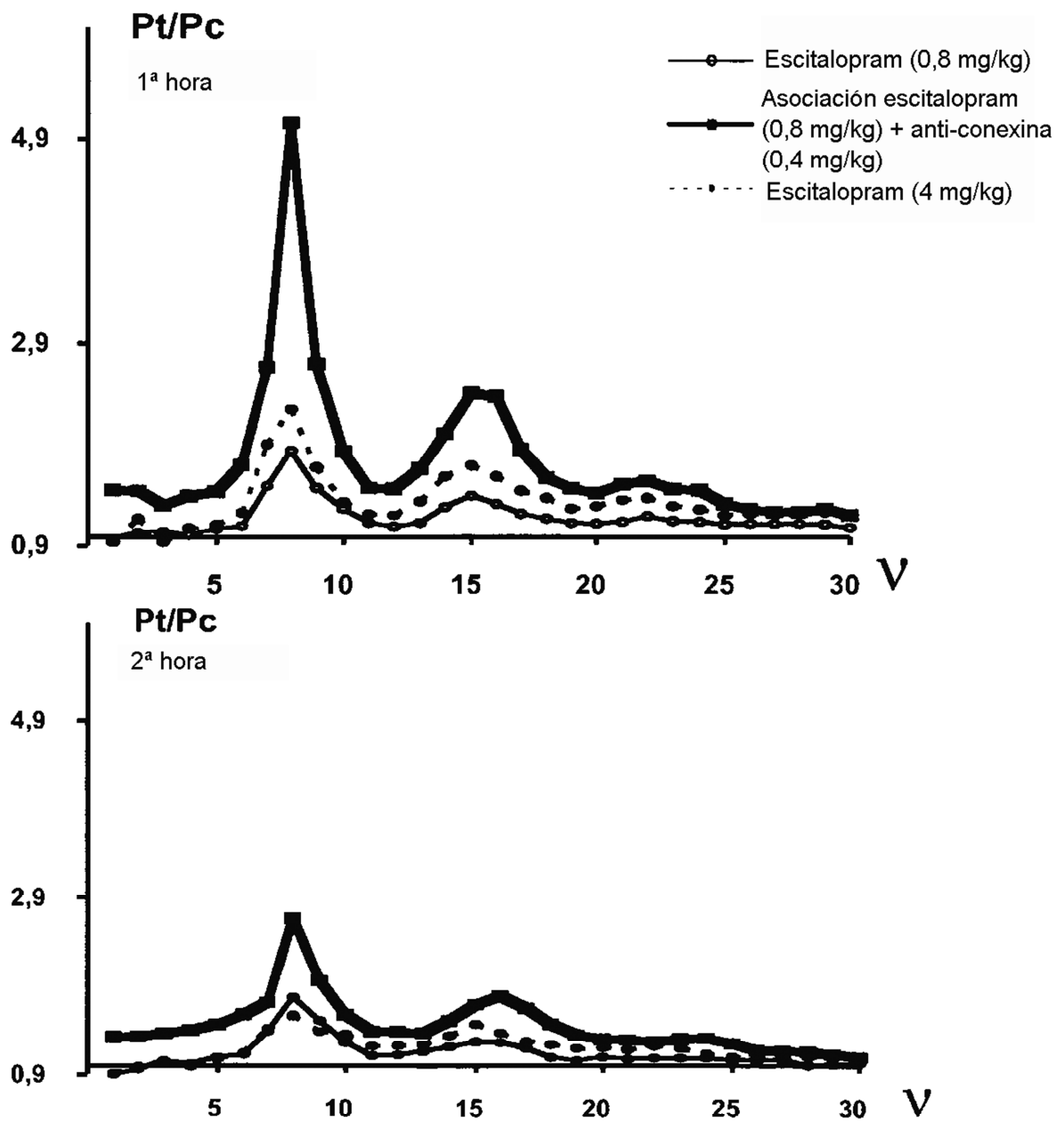


Figura 11

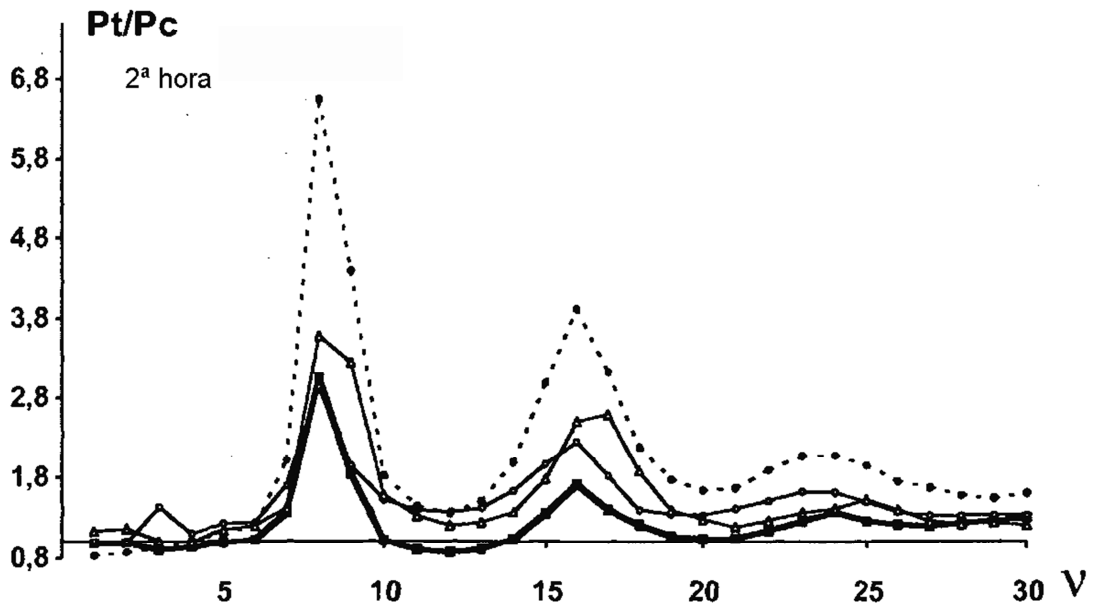
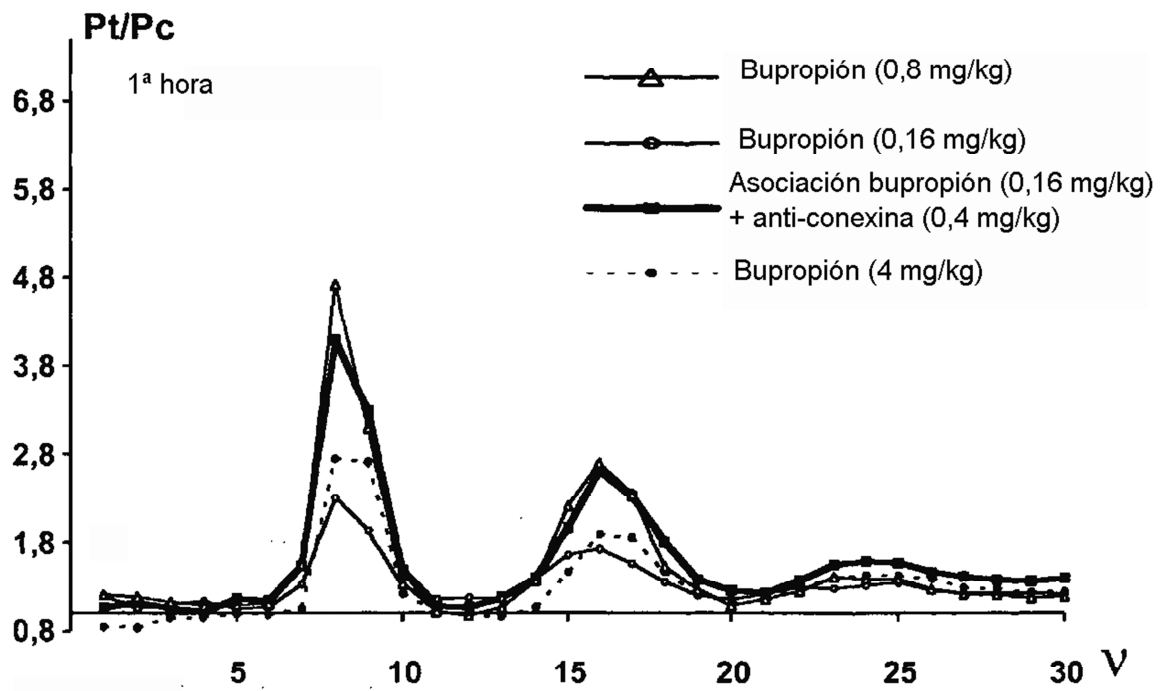


Figura 12

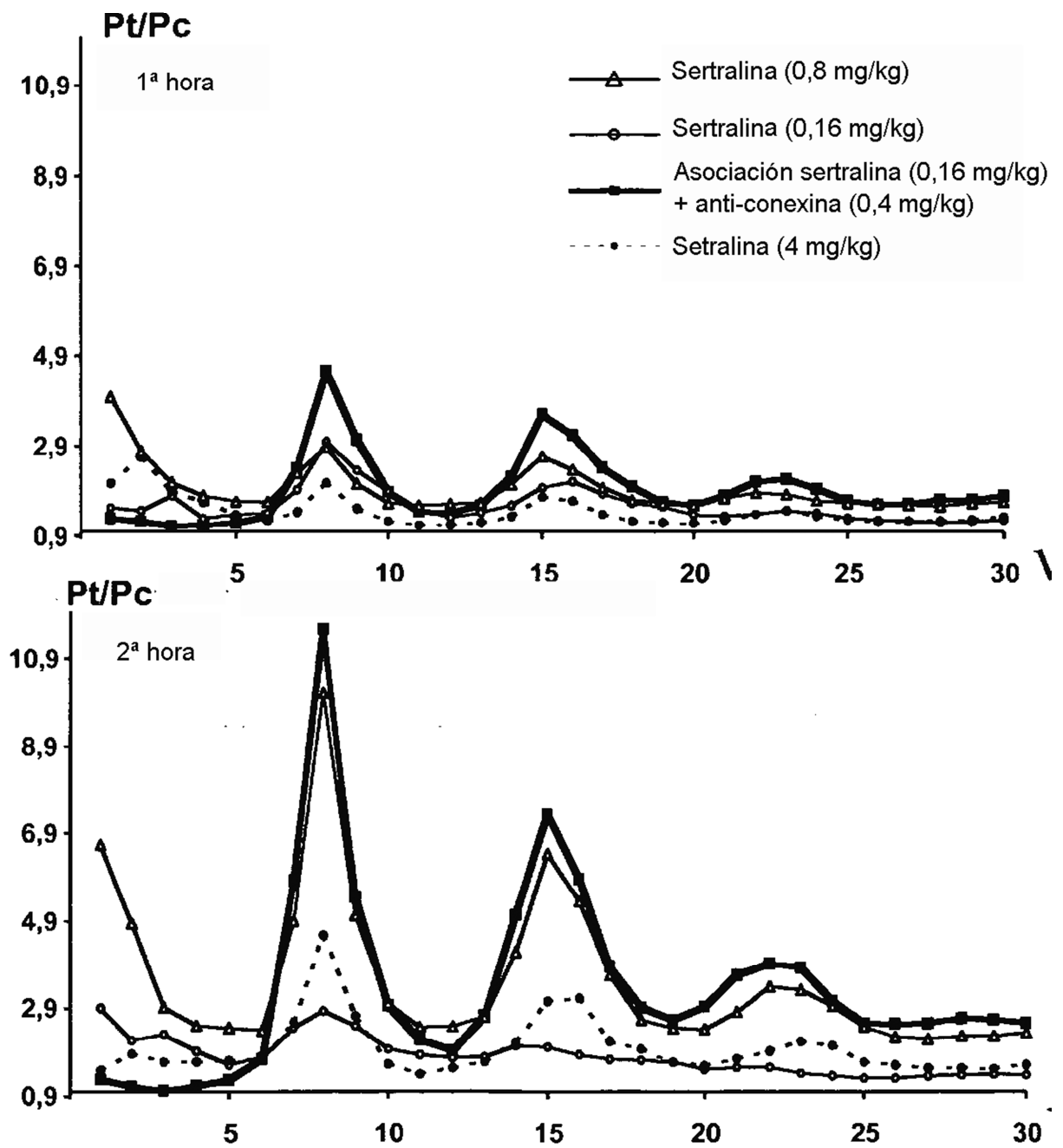


Figura 13

