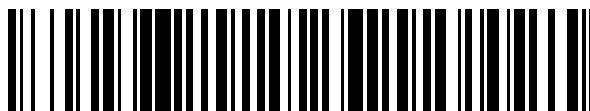


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 421 306**

51 Int. Cl.:

A61K 38/08	(2006.01)	A61K 31/437	(2006.01)
A61K 38/55	(2006.01)	A61K 31/407	(2006.01)
A61K 38/06	(2006.01)	A61K 31/4409	(2006.01)
A61K 38/12	(2006.01)	A61K 31/4412	(2006.01)
A61K 45/06	(2006.01)	A61K 31/5375	(2006.01)
A61K 31/00	(2006.01)	A61K 31/5415	(2006.01)
A61K 9/08	(2006.01)		
A61P 41/00	(2006.01)		
A61K 31/4196	(2006.01)		
A61K 31/135	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.12.1995 E 10182117 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.04.2013 EP 2301562**

54 Título: **Solución de irrigación y procedimiento para inhibir el dolor, la inflamación y los espasmos**

30 Prioridad:

12.12.1994 US 353775

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

30.08.2013

73 Titular/es:

**OMEROS CORPORATION (100.0%)
201 Elliott Avenue West
Seattle, WA 98119, US**

72 Inventor/es:

**DEMOPULOS, GREGORY A;
PIERCE PALMER, PAMELA A y
HERZ, JEFFREY M.**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 421 306 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

Solución de irrigación y procedimiento para inhibir el dolor, la inflamación y los espasmos.

5 **I. Campo de la invención**

La presente invención se refiere a soluciones de irrigación quirúrgica, y particularmente a soluciones de irrigación quirúrgica para su utilización en la inhibición del dolor y la inflamación.

10 **II. Antecedentes de la invención**

La artroscopia es un procedimiento quirúrgico en el que una cámara, unida a una fuente remota de luz y a un monitor de vídeo, se inserta en una articulación anatómica (por ejemplo la rodilla, hombro, etc.) por una pequeña incisión portal en la piel y cápsula articular suprayacentes. A través de incisiones portales similares pueden introducirse instrumentos quirúrgicos en la articulación, guiando su utilización mediante visualización artroscópica. A medida que ha mejorado la técnica de los artroscopistas, han podido llevarse a cabo artroscópicamente un número creciente de procedimientos operatorios, realizados en el pasado mediante técnica quirúrgica "abierta". Tales procedimientos incluyen, por ejemplo, meniscectomías parciales y reconstrucciones de ligamentos de la rodilla, acromioplastias y desbridamientos de manguito de los rotadores en el hombro y sinovectomías en el codo. Como resultado de las crecientes indicaciones quirúrgicas y el desarrollo de artroscopios de pequeño diámetro, también se han convertido en rutinarias las artroscopias de muñeca y tobillo.

25 Durante cada artroscopia, se irriga continuamente la articulación con líquido fisiológico de irrigación (por ejemplo solución salina normal o solución lactato de Ringer), distendiendo la cápsula articular y limpiando los residuos operatorios, proporcionando de esta manera una visualización intraarticular más clara. La patente US nº 4.504.493 de Marshall da a conocer una solución isomolar de glicerol en agua para una solución de irrigación no conductora y ópticamente transparente para artroscopia.

30 La irrigación también se utiliza en otros procedimientos, tales como en los procedimientos terapéuticos y diagnósticos y vasculares, en procedimientos urológicos y en el tratamiento de cualquier herida operatoria. En cada caso, se utiliza un líquido fisiológico para irrigar una herida o cavidad o conducto corporal. Los líquidos fisiológicos de irrigación convencionales no proporcionan efectos analgésicos o antiinflamatorios.

35 El alivio del dolor y padecimiento en los pacientes postoperatorios es un área de especial interés en medicina clínica, especialmente dado el creciente número de operaciones ambulatorias que se llevan a cabo cada año. Los agentes más ampliamente utilizados, los inhibidores de la ciclooxigenasa (por ejemplo el ibuprofeno) y los opiáceos (por ejemplo la morfina, el fentanilo) presentan efectos secundarios significativos, incluyendo la irritación/hemorragia gastrointestinal y la depresión respiratoria. La elevada incidencia de náuseas y vómitos relacionados con los opiáceos es especialmente problemática en el periodo postoperatorio. Los agentes terapéuticos destinados al tratamiento del dolor postoperatorio que simultáneamente evitan los efectos secundarios perjudiciales no son fáciles de desarrollar porque las dianas moleculares de estos agentes se encuentran distribuidas ampliamente en todo el cuerpo y median en diversas acciones fisiológicas. A pesar de la significativa necesidad clínica de inhibir el dolor y la inflamación, así como el vasoespasmo y el espasmo del músculo liso, no se han desarrollado procedimientos de administración de inhibidores del dolor, de la inflamación y de espasmos a dosis efectivas que simultáneamente minimicen los efectos secundarios sistémicos adversos. A título de ejemplo, los procedimientos convencionales de administración (es decir, intravenosos, orales o intramusculares) de los agonistas de los opiáceos a dosis terapéuticas con frecuencia están asociados a efectos secundarios adversos significativos, incluyendo la depresión respiratoria severa, cambios de humor, obnubilación mental, náuseas profundas y vómitos.

50 Los estudios anteriores han demostrado la capacidad de los agentes endógenos, tales como la serotonina (5-hidroxitriptamina, en ocasiones denominada en el presente documento "5-HT"), bradiquinina e histamina, de producir dolor e inflamación. Sicuteri, F. *et al.*, Serotonin-Bradykinin Potentiation in the Pain Receptors in Man, *Life Sci.* 4, páginas 309-316 (1965); Rosenthal, S.R., Histamine as the Chemical Mediator for Cutaneous Pain, *J. Invest. Dermat.* 69, páginas 98-105 (1977); Richardson, B.P. *et al.*, Identification of Serotonin M-Receptor Subtypes and their Specific Blockade by a New Class of Drugs, *Nature* 316, páginas 126-131 (1985); Whalley, E.T. *et al.*, The Effect of Kinin Agonists and Antagonists, *Naunyn-Schmiedeb Arch. Pharmacol.* 36, páginas 652-657 (1987); Lang, E. *et al.*, Chemo-Sensitivity of Fine Afferents from Rat Skin *In Vitro*, *J. Neurophysiol.* 63, páginas 887-901 (1990).

60 Por ejemplo, la 5-HT aplicada a la base de una ampolla en el ser humano (piel desnuda) se ha demostrado que provoca dolor que puede ser inhibido mediante antagonistas del receptor 5-HT₃, Richardson *et al.* (1985). De manera similar, la bradiquinina aplicada periféricamente provoca dolor que puede ser bloqueado mediante antagonistas de los receptores de la bradiquinina, Sicuteri *et al.* (1965); Whalley *et al.* (1987); Dray, A. *et al.*, Bradykinin and Inflammatory Pain, *Trends Neurosci.* 16, páginas 99-104 (1993). Las histaminas aplicadas periféricamente producen vasodilatación, prurito y dolor que pueden ser inhibidos mediante antagonistas de los receptores de la histamina, Rosenthal (1977); Douglas, W.W., "Histamine and 5-Hydroxytryptamine (Serotonin) and their Antagonists", en: Goodman, L.S. *et al.*, editores, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, MacMillan Publishing Company, New

York, páginas 605-638 (1985); Rumore, M.M. *et al.*, Analgesic Effects of Antihistaminics, *Life Sci.* 36, páginas 403-416 (1985). Se ha demostrado que las combinaciones de dichos tres agonistas (5-HT, bradiquinina e histamina) aplicados conjuntamente manifiestan un efecto sinérgico en la provocación de dolor, produciendo una señal de dolor intenso y duradero, Sicuteri *et al.* (1965); Richardson *et al.* (1985); Kessler, W. *et al.*, Excitation of Cutaneous Afferent Nerve Endings *In Vitro* by a Combination of Inflammatory Mediators and Conditioning Effect of Substance P, *Exp. Brain Res.* 91, páginas 467-476 (1992).

En el cuerpo, 5-HT se localiza en las plaquetas y en las neuronas centrales, la histamina se encuentra en los mastocitos y la bradiquinina es producida a partir de una molécula precursora más grande durante traumatismos de los tejidos, cambios de pH y de temperatura. Debido a que 5-HT puede ser liberado en grandes cantidades por las plaquetas en los sitios de lesión de los tejidos, produciendo niveles plasmáticos 20 veces más elevados que los niveles de reposo (Ashton, J.H. *et al.*, Serotonin as a Mediator of Cyclic Flow Variations in Stenosed Canine Coronary Arteries, *Circulation* 73, páginas 572-578 (1986)), es posible que el 5-HT endógeno desempeñe un papel en la producción de dolor, hiperalgesia e inflamación postoperatorios. De hecho, las plaquetas activadas se ha demostrado que excitan nociceptores periféricos *in vitro*, Ringkamp, M. *et al.*, Activated Human Platelets in Plasma Excite Nociceptors in Rat Skin, *In Vitro, Neurosci. Lett.* 170, páginas 103-106 (1994). De manera similar, la histamina y la bradiquinina también son liberadas en tejidos durante un traumatismo, Kimura, E. *et al.*, Changes in Bradykinin Level in Coronary Sinus Blood After the Experimental Occlusion of a Coronary Artery, *Am. Heart J.* 85, páginas 635-647 (1973); Douglas (1985); Dray *et al.* (1993).

Además, también es conocido que las prostaglandinas provocan dolor e inflamación. Los inhibidores de la ciclooxigenasa, por ejemplo el ibuprofeno, se utilizan comúnmente para bloquear la producción de prostaglandinas, reduciendo de esta manera el dolor e inflamación mediados por prostaglandinas, Flower, R.J. *et al.*, Analgesic-Antipyretics and Antiinflammatory Agents; Drugs Employed in the Treatment of Gout, en: Goodman, L.S. *et al.*, editor, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, MacMillan Publishing Company, New York, páginas 674-715 (1985). Los inhibidores de la ciclooxigenasa están asociados con algunos efectos secundarios sistémicos adversos cuando se aplican convencionalmente. Por ejemplo, la indometacina o el ceterolac poseen efectos secundarios gastrointestinales y renales adversos bien reconocidos.

Tal como se ha discutido, la 5-HT, la histamina, la bradiquinina y las prostaglandinas pueden causar dolor e inflamación. Los diversos receptores a través de los cuales estos agentes median sus efectos sobre los tejidos periféricos han sido conocidos y/o debatidos durante las últimas dos décadas. La mayoría de estudios han sido llevados a cabo en ratas u otros modelos animales. Sin embargo, existen diferencias de farmacología y de secuencias de los receptores entre el ser humano y las especies animales. No hay ningún estudio que demuestre concluyentemente la importancia de la 5-HT, de la bradiquinina o de la histamina en la producción del dolor postoperatorio en el ser humano.

Además, los antagonistas de estos mediadores en la actualidad no son utilizados para el tratamiento del dolor postoperatorio. Se ha utilizado una clase de fármacos, denominada 5-HT y antagonistas de la incorporación de la norepinefrina, que incluye la amitriptilina, por vía oral con éxito moderado en las condiciones de dolor crónico. Sin embargo, los mecanismos de los estados de dolor agudo frente a los de dolor crónico se cree que son considerablemente diferentes. De hecho, dos estudios en el contexto del dolor agudo que utilizaron perioperatoriamente amitriptilina han demostrado que ésta no posee efecto de alivio del dolor, Levine, J.D. *et al.*, Desipramine Enhances Opiate Postoperative Analgesia, *Pain* 27, páginas 45-49 (1986); Kerrick, J.M. *et al.*, Low-Dose Amitriptyline as an Adjunct to Opioids for Post-operative Orthopedic Pain: a Placebo-Controlled Trial Period, *Pain* 52, páginas 325-330 (1993). En ambos estudios se administró el fármaco oralmente. El segundo estudio observó que la amitriptilina oral proporcionaba una sensación de bienestar general inferior en pacientes postoperatorios, lo que puede ser debido a la afinidad del fármaco por múltiples receptores de amina en el cerebro.

La amitriptilina, además de bloquear la incorporación de la 5-HT y de la norepinefrina, es un potente antagonista de los receptores de la 5-HT. Por lo tanto, la falta de eficacia en la reducción del dolor postoperatorio en los estudios anteriormente indicados aparentemente estaría en conflicto con la propuesta de un papel para la 5-HT endógena en el dolor agudo. Existen varias razones para la falta de alivio del dolor agudo por la amitriptilina en estos dos estudios. (1) El primer estudio utilizó amitriptilina preoperatoriamente durante una semana hasta la noche anterior a la cirugía, mientras que el segundo estudio sólo utilizó amitriptilina postoperatoriamente. Por lo tanto, no había amitriptilina presente en los tejidos del sitio operatorio durante la fase actual de lesión de los tejidos, momento en el que la 5-HT supuestamente es liberada. (2) Es conocido que la amitriptilina es extensamente metabolizada por el hígado. Mediante la administración oral, la concentración de amitriptilina en los tejidos del sitio operatorio podría no haber sido suficientemente elevada durante un periodo suficientemente prolongado para inhibir la actividad de la 5-HT postoperatoriamente liberada en el segundo estudio. (3) Debido a que existen múltiples mediadores en la inflamación, y ha habido estudios que han demostrado la sinergia entre los mediadores inflamatorios, el bloqueo de únicamente un agente (5-HT) podría no inhibir suficientemente la respuesta inflamatoria frente a la lesión de los tejidos.

Se han llevado a cabo varios estudios que demuestran la capacidad de las concentraciones extremadamente altas (soluciones al 1%-3%, es decir, 10 a 30 mg por mililitro) de antagonistas de los receptores de la histamina₁ (H₁) de

actuar como anestésico local en procedimientos quirúrgicos. Este efecto anestésico no se cree que esté mediado por receptores H_1 sino que más bien es debido a una interacción no específica con los canales de sodio de la membrana neuronal (de manera similar a la acción de la lidocaína). Dados los efectos secundarios (por ejemplo la sedación) asociados con estas concentraciones "anestésicas" elevadas de antagonistas de los receptores de la histamina, en la actualidad los antagonistas de receptores de la histamina no se administran localmente en el contexto perioperatorio.

El documento EP 0539886 se refiere a la utilización de unas soluciones acuosas sustancialmente libres de iones de carbohidratos como fluido de irrigación para una artroscopia. El documento EP 0364266 divulga compuestos antiinflamatorios no esteroideos y/o el factor de crecimiento epidérmico (EGF) para mejorar la cicatrización de las heridas endoteliales de la córnea.

III. Sumario de la invención

La presente invención proporciona una solución de dosis menores (es decir, diluida) constituida por una mezcla de múltiples agentes dirigidos a inhibir localmente los mediadores del dolor y la inflamación en un fluido portador de electrolitos fisiológicos. La invención proporciona asimismo una utilización para el suministro perioperatorio de la solución de irrigación que contiene estos agentes directamente en el punto quirúrgico, en el que actúa localmente al nivel del neurorreceptor para limitar de manera preventiva el dolor y la inflamación en el punto. Los agentes antidolor/antiinflamación en la solución incluyen agentes seleccionados de entre las siguientes clases de antagonistas de los receptores, agonistas de los receptores e inhibidores enzimáticos, actuando cada clase a través de un mecanismo de acción molecular diferente de inhibición del dolor y de la inflamación: (1) antagonistas de los receptores de la serotonina; (2) agonistas de los receptores de la serotonina; (3) antagonistas de los receptores de la histamina; (4) antagonistas de los receptores de la bradiquinina; (5) inhibidores de la calcitreína; (6) antagonistas de los receptores de la taquiquinina, incluyendo los antagonistas de los subtipos de receptores de la neuroquinina y neuroquinina₂; (7) antagonistas de los receptores de péptidos relacionados con el gen de la calcitonina (CORP); (8) antagonistas de los receptores de la interleuquina; (9) inhibidores de enzimas activos en la ruta sintética de los metabolitos del ácido quidónico, incluyendo (a) inhibidores de la fosfolipasa, incluyendo la isoforma PLA₂ de inhibidores y la isoforma PLC γ de inhibidores, (b) inhibidores de la ciclooxigenasa y (c) inhibidores de la lipooxigenasa; (10) antagonistas de los receptores prostanoideos, incluyendo los antagonistas de los receptores eicosanoides EP-1 y EP-4 y los antagonistas del subtipo de los receptores del tromboxano; (11) antagonistas de los receptores del leucotrieno, incluyendo los antagonistas del subtipo de receptores del leucotrieno B₄ y del subtipo de receptores del leucotrieno D₄; (12) agonistas de los receptores de opiáceos, incluyendo los agonistas del subtipo de los receptores mu-opiáceos, delta-opiáceos y kappa-opiáceos; (13) agonistas y antagonistas purinoceptores, incluyendo los antagonistas de los receptores P_{2X} y los agonistas de los receptores P_{2Y}; (14) abridores del canal del potasio sensibles al adenosintrifosfato (ATP); y (15) antagonistas de los canales de calcio. Cada uno de los agentes anteriores funciona tanto como agente antiinflamatorio y como antinociceptivo, es decir, como agente antidolor o analgésico. La selección de los agentes de entre dichas clases de compuestos se adapta a la aplicación particular.

La solución de la presente invención también incluye agentes antiespasmódicos para aplicaciones particulares. Por ejemplo, pueden incluirse agentes antiespasmódicos en soluciones utilizadas para procedimientos vasculares para limitar el vasoespasmo, y para procedimientos urológicos para limitar el espasmo en el tracto urinario y en la pared de la vejiga. Para tales aplicaciones, se utilizan antiespasmódicos en la solución. Por ejemplo, puede incluirse un agente antidolor/antiinflamación que también sirva como agente antiespasmódico. Entre los agentes antiinflamatorios/antidolor que también actúan como agentes antiespasmódicos se incluyen los antagonistas de los receptores de la serotonina, los antagonistas de los receptores de la taquiquinina, los abridores del canal de potasio sensibles al ATP y los antagonistas de los canales de calcio. Otros agentes que pueden utilizarse en la solución, específicamente por sus propiedades antiespasmódicas, incluyen los antagonistas de los receptores de la endotelina y los donadores de óxido nítrico (activadores enzimáticos).

La presente invención proporciona asimismo una solución diluida de irrigación para la utilización en la irrigación continua de un sitio o herida operatoria durante un procedimiento quirúrgico. Un procedimiento implica disolver en un líquido portador de electrolitos fisiológicos una pluralidad de agentes antidolor/antiinflamatorios, y para algunas aplicaciones, agentes antiespasmódicos, incluyendo cada agente a una concentración no superior a 100.000 nanomolar, y más preferentemente no superior a 10.000 nanomolar.

La utilización de la presente invención permite la administración de una combinación diluida de múltiples antagonistas a mediadores del dolor, de la inflamación y del espasmo, así como a agonistas de los receptores inhibidores directamente a una herida, tal como el tejido articular durante los procedimientos artroscópicos. Debido a que los ingredientes activos en la solución se aplican localmente directamente en los tejidos operatorios de manera continua, los fármacos pueden utilizarse con eficacia a dosis extremadamente bajas en comparación con las dosis necesarias para el efecto terapéutico cuando los mismos fármacos se administran oralmente, intramuscularmente o intravascularmente. Las ventajas de las aplicaciones a dosis bajas de los agentes son tres. La más importante es la ausencia de efectos secundarios sistémicos, que con frecuencia limitan la utilidad de estos agentes. Las aplicaciones terapéuticas a dosis bajas utilizadas en la solución de la presente invención minimizan la absorción intravascular de los agentes incluidos, minimizando también los efectos sistémicos. Además, los agentes

seleccionados para aplicaciones particulares en las soluciones de la presente invención son muy específicos con respecto a los mediadores en los que actúan. Esta especificidad se mantiene mediante la utilización de dosificaciones bajas. Finalmente, los costes de estos agentes activos por litro son extremadamente reducidos.

5 La administración local de los agentes a través de la irrigación garantiza una concentración conocida en el sitio diana, con independencia de la variabilidad entre pacientes en cuanto a metabolismo, flujo sanguíneo, etc. Debido al modo directo de administración, se obtiene una concentración terapéutica de manera instantánea. De esta manera, se proporciona un mejor control de la dosificación. La administración local de los agentes activos directamente en la herida o sitio operatorio también reduce sustancialmente la degradación de los agentes a través de procesos extracelulares, por ejemplo el metabolismo de primer y segundo paso, que de otra manera se produciría si los agentes se administrasen oralmente, intravenosamente o intramuscularmente. Lo anterior es particularmente cierto para aquellos agentes activos que son péptidos, que son rápidamente metabolizados. Por ejemplo, algunos agentes en las clases siguientes son peptídicos: antagonistas de los receptores de la bradiquinina; antagonistas de los receptores de la taquiquinina; agonistas de los receptores de opiáceos; antagonistas de los receptores CGRP; y antagonistas de los receptores de la interleuquina. La administración local continua en la herida o sitio operatorio minimiza la degradación, permitiendo simultáneamente la sustitución continua de la parte de agente que puede haber sido degradada, con el fin de asegurar que una concentración terapéutica local, suficiente para mantener la ocupación de los receptores, se mantiene en toda la duración del procedimiento quirúrgico.

20 La administración local de la solución durante todo el procedimiento quirúrgico según la presente invención produce un efecto "preventivo analgésico". Al ocupar los receptores diana o inactivar o activar los enzimas diana antes de producirse un traumatismo operatorio significativo localmente, los agentes de la presente invención modulan la transmisión de la señal inhibiendo preventivamente los procesos patológicos diana. Si los mediadores y procesos inflamatorios se inhiben antes de que puedan provocar daños en los tejidos, el beneficio resulta más sustancial que si se administran después de que se haya iniciado el daño.

30 La inhibición de más de un mediador inflamatorio, mediante la aplicación de la solución de agentes múltiples de la presente invención se ha demostrado que reduce drásticamente el grado de inflamación y dolor. Las soluciones de irrigación de la presente invención incluyen combinaciones de fármacos, resultando efectivas contra múltiples receptores anatómicos o enzimas. Los agentes farmacológicos de esta manera son simultáneamente efectivos contra una combinación de procesos patológicos, incluyendo dolor e inflamación, vasoespasmo, y espasmo del músculo liso. La acción de estos mediadores se considera sinérgica, en el aspecto de que múltiples antagonistas y agonistas inhibitorios de receptores de la presente invención proporcionan una eficacia incrementada desproporcionadamente cuando se encuentran combinados, en comparación con la eficacia proporcionada por los agentes por separado. Posteriormente se comenta la acción sinérgica de varios de los agentes de la presente invención, mediante ejemplos, en las descripciones detalladas de dichos agentes.

40 Además de la artroscopia, la solución de la presente invención también puede aplicarse localmente a cualquier cavidad o conducto del cuerpo humano, herida operatoria, herida traumática (por ejemplo quemaduras) o en cualquier procedimiento operatorio/intervencionista en el que pueda llevarse a cabo irrigación. Estos procedimientos incluyen de manera no limitativa procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos cardiovasculares intervencionistas y procedimientos orales, dentales y periodontales. En adelante en la presente memoria, el término "herida", a menos que se indique lo contrario, pretende incluir heridas quirúrgicas, sitios operatorios/intervencionistas y heridas traumáticas.

45 En su utilización intraoperatoria, la solución debería resultar en una reducción clínicamente significativa del dolor e inflamación en el sitio operatorio en comparación con los fluidos de irrigación utilizados en la actualidad, reduciendo de esta manera los requisitos postoperatorios de analgesia del paciente (es decir, reduciendo la administración de opiáceos) y, en su caso, permitiendo una movilización más precoz del sitio operatorio en el paciente. No resulta necesario ningún esfuerzo adicional por parte del cirujano ni del personal de quirófano para utilizar la presente solución en comparación con los fluidos de irrigación convencionales.

IV. Breve descripción de los dibujos

55 A continuación se describe la presente invención en mayor detalle, mediante ejemplos, con referencia a los dibujos adjuntos, en los cuales:

60 Las figuras 1, 2A y 2B proporcionan unos gráficos del porcentaje de vasoconstricción frente al tiempo en arterias de control, en el segmento proximal de las arterias en cuestión, y en el segmento distal de las arterias en cuestión, respectivamente, para el estudio animal descrito en el Ejemplo VII en el presente documento, demostrando el efecto sobre la vasoconstricción de la infusión con antagonistas de la histamina y de la serotonina, utilizados en las soluciones de la presente invención durante la angioplastia con balón; y

65 Las figuras 3 y 4 proporcionan unos gráficos de la extravasación plasmática frente a la dosificación con amitriptilina, utilizada en las soluciones de la presente invención, administrada intravenosa e intraarticularmente,

respectivamente, en las articulaciones de rodilla en las que se ha inducido la extravasación mediante la introducción de 5-hidroxitriptamina en el estudio animal descrito en el Ejemplo VIII en la presente memoria.

V. Descripción detallada de la forma de realización preferida

5 La solución de irrigación de la presente invención es una solución diluida con múltiples agentes inhibidores del dolor/inflamación en un vehículo fisiológico. El vehículo es un fluido que contiene electrolitos fisiológicos, tal como una solución salina o de lactato sódico compuesta. El vehículo es un líquido.

10 Los agentes antiinflamación/antidolor se seleccionan de entre el grupo constituido por: (1) antagonistas de los receptores de la serotonina; (2) agonistas de los receptores de la serotonina; (3) antagonistas de los receptores de la histamina; (4) antagonistas de los receptores de la bradiquinina; (5) inhibidores de la calcitréina; (6) antagonistas de los receptores de la taquiquinina, incluyendo los antagonistas de los subtipos de receptores de la neuroquinina y la neuroquinina₂; (7) antagonistas de los receptores del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP); (8) antagonistas de los receptores de la interleuquina; (9) inhibidores de los enzimas activos en la ruta sintética de los metabolitos del ácido aracadónico, incluyendo (a) inhibidores de las fosfolipasas, incluyendo los inhibidores de las isoforma PLA₂ y los inhibidores de la isoforma PLC_γ, (b) inhibidores de la ciclooxigenasa, y (c) inhibidores de la lipooxigenasa; (10) antagonistas de los receptores prostanoideos, incluyendo los antagonistas de los subtipos de receptores eicosanoides EP-1 y EP-4 y los antagonistas del subtipo de receptores del tromboxano; (11) antagonistas de los receptores del leucotrieno, incluyendo los antagonistas del subtipo de receptores del leucotrieno B₄ y los antagonistas del subtipo de receptores del leucotrieno D₄; (12) agonistas de los receptores de opiáceos, incluyendo los agonistas de los subtipos de receptores mu-opiáceos, delta-opiáceos y kappa-opiáceos; (13) agonistas y antagonistas de purinorreceptores, incluyendo los antagonistas de los receptores P_{2X} y los agonistas de los receptores P_{2Y}; (14) abridores de los canales de potasio sensibles a la adenosina trifosfato (ATP); y (15) antagonistas de los canales de calcio. Entre los agentes antiinflamatorios/antidolor adecuados que también actúan como agentes antiespasmódicos se incluyen los antagonistas de los receptores de la serotonina, los antagonistas de los receptores de la taquiquinina, los abridores de los canales de potasio sensibles al ATP y los antagonistas de los canales de calcio. Pueden utilizarse otros agentes en la solución específicamente por sus propiedades antiespasmódicas, incluyendo los antagonistas de los receptores de la endotelina y los donadores de óxido nítrico (activadores enzimáticos).

En cada una de las soluciones quirúrgicas de la presente invención, los agentes se incluyen a bajas concentraciones y se administran localmente a dosis bajas relativamente a las concentraciones y dosis requeridas con los procedimientos convencionales de administración de fármacos para conseguir el efecto terapéutico deseado. Resulta imposible obtener un efecto terapéutico equivalente mediante la administración de agentes dosificados de manera similar a través de otras rutas de administración farmacológica (es decir, intravenosamente, subcutáneamente, intramuscularmente u oralmente) debido a que los fármacos administrados sistémicamente se ven sometidos a metabolismo de primer y segundo paso. Cada agente preferentemente se incluye a una concentración baja, de 0,1 a 10.000 veces K_d nanomolar, excepto para los inhibidores de la ciclooxigenasa, que pueden ser necesarios a concentraciones más elevadas dependiendo del inhibidor particular seleccionado. Los agentes exactos seleccionados para su utilización en la solución, y la concentración de los mismos, varía de acuerdo con la aplicación particular, tal como se describe después.

Una solución según la presente invención incluye múltiples agentes inhibidores del dolor/inflamación o una combinación de agentes inhibidores del dolor/inflamación y antiespasmódicos de entre las clases enumeradas, a una concentración baja. Debido al efecto sinérgico anteriormente indicado de una multiplicidad de agentes, y al deseo de bloquear ampliamente el dolor y la inflamación, son utilizados múltiples agentes.

Las soluciones quirúrgicas constituyen nuevos agentes farmacológicos múltiples terapéuticos que actúan en diferentes receptores diana y dianas moleculares enzimáticas. Hasta el momento, las estrategias farmacológicas se han centrado en el desarrollo de fármacos altamente específicos que sean selectivos de subtipos de receptores e isoformas enzimáticas individuales que median en las respuestas frente a neurotransmisores y hormonas de señalización individuales. A título de ejemplo, los péptidos endotelinas se encuentran entre los vasoconstrictores más potentes conocidos. Varias empresas farmacéuticas están buscando antagonistas selectivos que sean específicos de determinados subtipos de receptores de la endotelina (ET) de cara a su utilización en el tratamiento de numerosos trastornos que implican niveles elevados de endotelina en el cuerpo. Al reconocer el papel potencial del subtipo de receptor ET_A en la hipertensión, estas empresas farmacéuticas se han centrado específicamente en el desarrollo de antagonistas selectivos del subtipo de receptor ET_A para el tratamiento previsto del vasoespasmo coronario. Esta estrategia farmacológica estándar, aunque bien establecida, no es óptima, ya que muchos otros agentes vasoconstrictores (por ejemplo, serotonina, prostaglandina, eicosanoide, etc.) pueden ser responsables simultáneamente de iniciar y mantener un episodio vasoespástico. Además, a pesar de la inactivación de un solo subtipo de receptor o enzima, la activación de otros subtipos de receptor o enzimas y la resultante transmisión de una señal, a menudo puede desencadenar un efecto de cascada. Esto explica la dificultad significativa para utilizar un solo fármaco que sea específico de un receptor para bloquear un proceso fisiopatológico en el que múltiples transmisores podrían desempeñar algún papel. Por lo tanto, centrarse únicamente en un subtipo individual específico de receptor, tal como ET_A, es probable que no resulte efectivo.

En contraste con el enfoque estándar de la terapia farmacológica, el enfoque terapéutico de las presentes soluciones quirúrgicas se basa en el argumento de que se requiere una combinación de fármacos de acción simultánea sobre diferentes dianas moleculares para inhibir el espectro completo de sucesos que subyacen al desarrollo de un estado fisiopatológico. Además, en lugar de reconocer un solo subtipo específico de receptor, las soluciones quirúrgicas están compuestas de fármacos que reconocen mecanismos moleculares comunes que operan en diferentes procesos fisiológicos celulares implicados en el desarrollo del dolor, inflamación, vasoespasmo, espasmo del músculo liso. De esta manera, la cascada de receptores y enzimas adicionales en las rutas nociceptiva, inflamatoria y espasmódica se ve minimizada por las soluciones quirúrgicas. En estas rutas fisiopatológicas, las soluciones quirúrgicas inhiben el efecto de cascada tanto “corriente arriba” como “corriente abajo”.

Un ejemplo de inhibición “corriente arriba” son los antagonistas de la ciclooxigenasa en el contexto del dolor y la inflamación. Las enzimas ciclooxigenasa (COX₁ y COX₂) catalizan la conversión del ácido araquidónico a prostaglandina H, la cual es un intermediario en la biosíntesis de los mediadores inflamatorios y nociceptivos, incluyendo las prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos. Los inhibidores de la ciclooxigenasa bloquean “corriente arriba” la formación de estos mediadores inflamatorios y nociceptivos. Esta estrategia excluye la necesidad de bloquear las interacciones de los siete subtipos anteriormente indicados de receptores prostanoide con sus ligandos naturales. Un inhibidor “corriente arriba” similar incluido en las soluciones quirúrgicas es la aprotinina, un inhibidor de la calicreína. El enzima calicreína, una proteasa serina, divide los quinínógenos de alto peso molecular en el plasma para producir bradiquininas, importantes mediadores del dolor y la inflamación. Mediante la inhibición del calicreína, la aprotinina inhibe efectivamente la síntesis de las bradiquininas, produciendo de esta manera una efectiva inhibición “corriente arriba” de estos mediadores inflamatorios.

Las soluciones quirúrgicas también hacen uso de inhibidores “corriente abajo” para controlar las rutas fisiopatológicas. En las preparaciones de músculo liso vascular que se han precontraído con una diversidad de neurotransmisores (por ejemplo, serotonina, histamina, endotelina y tromboxano) implicados en el vasoespasmo coronario, los abridores de los canales de potasio sensibles al ATP (KCOs) provocan una relajación del músculo liso que es dependiente de la concentración (Quast *et al.*, 1994; Kashiwabara *et al.*, 1994). Los KCOs, por lo tanto, proporcionan una ventaja significativa a las soluciones quirúrgicas en el contexto del vasoespasmo y del espasmo del músculo liso, proporcionando efectos antiespasmódicos “corriente abajo” que son independientes de la combinación fisiológica de agonistas que inician el suceso espasmódico. De manera similar, los donadores de NO y los antagonistas de los canales de calcio activados por voltaje pueden limitar el vasoespasmo y el espasmo del músculo liso mediante mediadores múltiples que se conoce que actúan antes en la ruta espasmódica. Estos mismos antagonistas de los canales de calcio también pueden proporcionar un bloqueo “corriente abajo” de la inflamación. Moncada, S., Flower, R. y Vane, J. In *Goodman's and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics*, (7^a ed.), MacMillan Publ. Inc., págs. 660-5 (1995).

A continuación se proporciona una descripción de los fármacos adecuados en las clases anteriormente indicadas de agentes de antiinflamación/antidolor, así como las concentraciones adecuadas para su utilización en las soluciones de la presente invención. Aunque sin limitación teórica, también se describe la justificación de la selección de las diversas clases de agentes que se cree que las convierte en operativas.

A. Antagonistas de los receptores de la serotonina

La serotonina se cree que produce dolor mediante la estimulación de los receptores de serotonina₂ (5-HT₂) y/o serotonina₃ (5-HT₃) sobre las neuronas nociceptivas en la periferia. La mayoría de investigadores están de acuerdo en que los receptores 5-HT₃ en los nociceptores periféricos median en la sensación inmediata de dolor producida por 5-HT (Richardson *et al.*, 1985). Además de inhibir el dolor inducido por 5-HT, los antagonistas de los receptores 5-HT₃, al inhibir la activación de los nociceptores, también pueden inhibir la inflamación neurogénica. Barnes P.J. *et al.*, Modulation of Neurogenic Inflammation: Novel Approaches to Inflammatory Disease, *Trends in Pharmacological Sciences* 11, páginas 185-189 (1990). Un estudio en articulaciones de tobillo de rata, sin embargo, reivindica que el receptor de 5-HT₂ es responsable de la activación de los nociceptores por parte de 5-HT, Grubb, B.D. *et al.*, A Study of 5-HT-Receptors Associated with Afferent Nerves Located in Normal and Inflamed Rat Ankle Joints, *Agents Actions* 25, páginas 216-218 (1988). Por lo tanto, la activación de los receptores 5-HT₂ también puede desempeñar un papel en el dolor periférico y la inflamación neurogénica.

Un objetivo de la solución de la presente invención es bloquear el dolor y una multitud de procesos inflamatorios. De esta manera, se utilizan convenientemente los antagonistas de receptores de tanto 5-HT₂ como de 5-HT₃, sea individualmente o en combinación, en la solución de la presente invención, tal como se describirá después. La amitriptilina (ElavilTM) es un antagonista de los receptores de 5-HT₂ adecuado para su utilización en la presente invención. La amitriptilina ha sido utilizada clínicamente durante muchos años como antidepresivo y se ha descubierto que presenta efectos beneficiosos en determinados pacientes con dolor crónico. La metoclopramida (ReglanTM) se utiliza clínicamente como un fármaco antiemético, aunque muestra una afinidad moderada por los receptores de 5-HT₃ y puede inhibir las acciones de 5-HT en este receptor, posiblemente inhibiendo el dolor debido a la liberación de 5-HT de las plaquetas. De esta manera, también resulta adecuado para la utilización en la presente invención.

Otros antagonistas adecuados de receptores de 5-HT₂ incluyen la imipramina, trazadona, desipramina y cetanserina. La cetanserina ha sido utilizada clínicamente por sus efectos antihipertensivos; Hedner, T. *et al.*, Effects of a New Serotonin Antagonist, Ketanserin, in Experimental and Clinical Hypertension, *Am. J. of Hypertension*, páginas 317-323 (julio de 1988). Otros antagonistas adecuados de los receptores de 5-HT₃ incluyen la cisaprida y el ondansetron. Los antagonistas adecuados de los receptores de serotonina_{1B} incluyen yohimbina, N-[*m*-metoxi-3-(4-metil-1-piperancinil)fenil]-2'-metil-4'-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)[1,1-bifenil]-4-carboxamida ("GR127935") y metiotepina. En la tabla 1 se muestran las concentraciones terapéuticas preferidas para la utilización de dichos fármacos en la solución de la presente invención.

Las concentraciones preferidas y terapéuticas para la utilización de estos fármacos en la solución de la presente invención se detallan en la Tabla 1.

TABLA 1

Concentraciones terapéuticas preferidas de los agentes
inhibitorios del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas (nanomolar)</u>	<u>Concentraciones preferidas (nanomolar)</u>
<u>Antagonistas de los receptores de serotonina₂</u>		
amitriptilina	0,1-1.000	50-500
imipramina	0,1-1.000	50-500
trazadona	0,1-1.000	50-500
desipramina	0,1-1.000	50-500
cetanserina	0,1-1.000	50-500
<u>Antagonistas de los receptores de serotonina₃</u>		
metoclopramida	10-10.000	200-2.000
cisaprida	0,1-1.000	20-200
ondansetron	0,1-1.000	20-200
<u>Antagonistas de serotonina_{1B} (1Dβ humana)</u>		
yohimbina	0,1-1.000	50-500
GR127935	0,1-1.000	10-500
metiotepina	0,1-500	1-100

B. Agonistas de los receptores de la serotonina

Es conocido que los receptores de 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} y 5-HT_{1D} inhiben la actividad de la adenilato ciclasa. De esta manera, la inclusión de una dosis baja de estos agonistas de receptores de serotonina_{1A}, serotonina_{1B} y serotonina_{1D} en la solución debería inhibir las neuronas que median en el dolor y la inflamación. Se espera la misma acción de los agonistas de receptores de serotonina_{1E} y serotonina_{1F} debido a que estos receptores también inhiben la adenilato ciclasa.

La buspirona es un agonista adecuado del receptor 1A para su utilización en la presente invención. El sumatriptán es un agonista adecuado de los receptores 1A, 1B, 1D y 1F. Un agonista adecuado de los receptores 1B y 1D es la dihidroergotamina. Un agonista adecuado de receptor 1E es la ergonovina. Las concentraciones terapéuticas preferidas para estos agonistas de receptores se proporcionan en la tabla 2.

TABLA 2

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas (nanomolar)</u>	<u>Concentraciones preferidas (nanomolar)</u>
<u>Agonistas de serotonina_{1A}:</u>		
buspirona	1-1.000	10-200
sumatriptán	1-1.000	10-200
<u>Agonistas de serotonina_{1B}:</u>		
dihidroergotamina	0,1-1.000	10-100
sumatriptán	1-1.000	10-200
<u>Agonistas de serotonina_{1D}:</u>		
dihidroergotamina	0,1-1.000	10-100
sumatriptán	1-1.000	10-200
<u>Agonistas de serotonina_{1E}:</u>		
ergonovina	10-2.000	100-1.000

<u>Concentraciones terapéuticas preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas (nanomolar)</u>	<u>Concentraciones preferidas (nanomolar)</u>
<u>Agonistas de serotonina_{1F}:</u> sumatriptán	1-1.000	10-200

C. Antagonistas de los receptores de la histamina

Los receptores de la histamina se clasifican en los subtipos histamina₁ (H₁) e histamina₂ (H₂). La respuesta inflamatoria clásica a la administración periférica de histamina está mediada a través del receptor H₁; Douglas (1985). Por lo tanto, la solución de la presente invención incluye preferentemente un antagonista de los receptores de la histamina H₁. La prometacina (PhenerganTM) es un fármaco antiemético utilizado comúnmente que potencialmente bloquea los receptores H₁ y que es adecuado para su utilización en la presente invención. Resulta interesante la demostración de que dicho fármaco posee efectos anestésicos locales, aunque las concentraciones necesarias para este efecto son varios órdenes de magnitud más altas que las necesarias para bloquear los receptores H₁, de esta manera se cree que los efectos se producen a través de mecanismos diferentes. La concentración de antagonista de los receptores de histamina en la solución es suficiente para inhibir los receptores H₁ implicados en la activación de nociceptores, pero no para conseguir un efecto “anestésico local”, eliminando de esta manera el problema de los efectos secundarios sistémicos.

Los receptores de histamina también es conocido que median en el tono vasomotor de las arterias coronarias. Los estudios *in vitro* en el corazón humano han demostrado que el subtipo de receptores de la histamina₁ es un mediador en la contracción del músculo coronario liso; Ginsburg, R. *et al.*, Histamine Provocation of Clinical Coronary Artery Spasm: Implications Concerning Pathogenesis of Variant *Angina Pectoris*, *American Heart J.*, vol. 102, páginas 819-822 (1980). Algunos estudios sugieren que la hipercontractilidad inducida por histamina en el sistema coronario humano es más pronunciada en las arterias proximales en el contexto de la arterioesclerosis y la asociada denudación del endotelio arterial; Keitoku, M. *et al.*, Different Histamine Actions in Proximal and Distal Human Coronary Arteries in Vitro, *Cardiovascular Research* 24, páginas 614-622 (1990). Por lo tanto, los antagonistas de los receptores de la histamina pueden incluirse en la solución de irrigación cardiovascular.

Otros antagonistas adecuados de los receptores H₁ incluyen la terfenadina, difenhidramina y amitriptilina. Debido a que la amitriptilina también es efectiva como antagonista de los receptores de la serotonina₂, presenta una función doble en su utilización en la presente invención. En la tabla 3 se muestran las concentraciones terapéuticas y preferidas adecuadas para cada uno de estos antagonistas de los receptores H₁.

TABLA 3

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas (nanomolar)</u>	<u>Concentraciones preferidas (nanomolar)</u>
<u>Antagonistas de los receptores de histamina₁:</u>		
prometacina	0,1-1.000	50-200
difenhydramina	0,1-1.000	50-200
amitriptilina	0,1-1.000	50-500
terfenadina	0,1-1.000	50-500

D. Antagonistas de los receptores de la bradiquinina

Los receptores de la bradiquinina generalmente se dividen en los subtipos bradiquinina₁ (B₁) y bradiquinina₂ (B₂). Algunos estudios han demostrado que el dolor e inflamación periféricos agudos producidos por la bradiquinina están mediados por el subtipo B₂, mientras que el dolor inducido por bradiquinina en el contexto de la inflamación crónica está mediado por el subtipo B₁; Perkins, M.N. *et al.*, Antinociceptive Activity of the Bradykinin B1 and B2 Receptor Antagonists, des-Arg⁹, [Leu⁸]-BK and HOE 140, in Two Models of Persistent Hyperalgesia in the Rat, *Pain* 53, páginas 191-197 (1993); Dray, A. *et al.*, Bradykinin and Inflammatory Pain, *Trends Neurosci.* 16, páginas 99-104 (1993), cada una de cuyas referencias se incorpora expresamente como referencia en la presente memoria.

En la actualidad, los antagonistas de los receptores de la bradiquinina no son utilizados clínicamente. Estos fármacos son péptidos (proteínas pequeñas) y de esta manera no pueden administrarse oralmente porque serían digeridas. Los antagonistas de los receptores B₂ bloquean el dolor e inflamación agudos inducidos por la bradiquinina; Dray *et al.*, 1993. Los antagonistas de los receptores B₁ inhiben el dolor en las condiciones inflamatorias crónicas; Perkins *et al.*, 1993; Dray *et al.*, 1993. Por lo tanto, dependiendo de la aplicación, la solución de la presente invención preferentemente incluye cualquiera de entre los antagonistas de receptores de la bradiquinina B₁ y B₂, o ambos. Por ejemplo, la artroscopia se lleva a cabo en las condiciones tanto aguda como crónica, y de esta manera una solución de irrigación para artroscopia podría incluir antagonistas de receptores tanto B₁ como B₂.

Los antagonistas de receptores de la bradiquinina adecuados para la utilización en la presente invención incluyen los siguientes antagonistas de receptores de la bradiquinina₁: el derivado [des-Arg¹⁰] de D-Arg-(Hyp³-Thi⁵-D-Tic⁷-Oic⁸)-BK ("el derivado [des-Arg¹⁰] de HOE 140" disponible en Hoechst Pharmaceuticals); y [Leu⁸]des-Arg⁹-BK. Los antagonistas de receptores de la bradiquinina₂ adecuados incluyen: [D-Phe⁷]-BK; D-Arg-(Hyp³-Thi^{5,8}-D-Phe⁷)-BK ("NPC 349"); D-Arg-(Hyp³-D-Phe⁷)-BK ("NPC 567"); y D-Arg-(Hyp³-Thi⁵-D-Tic⁷-Oic⁸)-BK ("HOE 140"). Estos compuestos se describen más completamente en el anteriormente citado Perkins *et al.* 1993 y Dray *et al.* 1993. En la tabla 4 se muestran las concentraciones terapéuticas y preferidas adecuadas.

TABLA 4

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u> (nanomolar)	<u>Concentraciones preferidas</u> (nanomolar)
<u>Antagonistas de los receptores de la bradiquinina₁</u>		
[Leu ⁸]des-Arg ⁹ -BK	1-1.000	50-500
Derivado [des-Arg ¹⁰] de HOE 140	1-1.000	50-500
<u>Antagonistas de los receptores de la bradiquinina₂</u>		
[D-Phe ⁷]-BK	100-10.000	200-5.000
NPC 349	1-1.000	50-500
NPC 567	1-1.000	50-500
HOE 140	1-1.000	50-500

E. Inhibidores de la calicreína

El péptido Bradiquinina es un importante mediador del dolor y la inflamación, tal como se ha indicado anteriormente. La bradiquinina se produce como un producto de corte por la acción del calicreína sobre los quinínógenos plasmáticos de alto peso molecular. Por lo tanto, se cree que los inhibidores de la calicreína son terapéuticos al inhibir la producción de bradiquinina y el dolor e inflamación resultantes. Un inhibidor adecuado de calicreína para utilizar en la presente invención es la aprotinina. Las concentraciones adecuadas para su utilización en las soluciones de la presente invención se indican a continuación en la tabla 5.

TABLA 5

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u> (nanomolar)	<u>Concentraciones preferidas</u> (nanomolar)
<u>Inhibidor de la calicreína:</u>		
Aprotinina	0,1-1.000	50-500
		más preferentemente: 200

F. Antagonistas de los receptores de la taquiquinina

Las taquiquininas (TK) son una familia de péptidos relacionados estructuralmente que incluyen la sustancia P, y las neuroquininas A (NKA) y B (NKB). Las neuronas son la fuente principal de TK en la periferia. Un efecto general importante de las TK es la estimulación neuronal, aunque otros efectos incluyen la vasodilatación dependiente del endotelio, extravasación de proteínas plasmáticas y degranulación de mastocitos y estimulación de células inflamatorias; Maggi, C.A., *Gen. Pharmacol.* vol. 22, páginas 1-24 (1991). Debido a la combinación anterior de acciones fisiológicas mediadas por la activación de receptores de TK, el reconocimiento de los receptores de TK para promover la analgesia y el tratamiento de la inflamación neurogénica.

1. Antagonistas del subtipo de los receptores neuroquinina₁

La sustancia P activa el subtipo de receptores de la neuroquinina llamado NK₁. La sustancia P es un endecapéptido que está presente en las terminales de los nervios sensoriales. Es conocido que la sustancia P posee múltiples actividades que producen inflamación y dolor en la periferia tras la activación de las fibras C, incluyendo la vasodilatación, extravasación plasmática y degranulación de mastocitos; Levine, J.D. *et al.*, Peptides and the Primary Afferent Nociceptor, *J. Neurosci.* 13, página 2273 (1993). Un antagonista adecuado de la sustancia P es ([D-Pro⁹[spiro-gamma-lactamo]Leu¹⁰,Trp¹¹]fisaletin-(1-11))("GR 82334"). Otros antagonistas adecuados para la utilización en la presente invención que actúan sobre el receptor NK₁ son: 1-imino-2-(2-metoxi-fenil)-etil)-7,7-difenil-4-perhidroisindolona(3aR, 7aR)("RP 67580"); y 2s,3s-cis-3-(2-metoxibencilamino)-2-benzhidril-quinuclidina ("CP 96345"). En la tabla 6 se muestran las concentraciones adecuadas de estos agentes.

TABLA 6

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonistas del subtipo de los</u>		
<u>receptores neuroquinina₁:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
GR 82334	1-1.000	10-500
CP 96345	1-10.000	100-1.000
RP 67580	10-1.000	100-1.000

2. Antagonistas del subtipo de receptores de la neuroquinina₂

La neuroquinina A es un péptido colocalizado en las neuronas sensoriales con la sustancia P y que también promueve la inflamación y el dolor. La neuroquinina A activa el receptor específico de la neuroquinina llamado NK₂; Edmonds-Alt, S. *et al.*; A Potent and Selective Non-Peptide Antagonist of the Neurokinin A (NK₂) Receptor, *Life Sci.* 50:PL101 (1992). En el tracto urinario los TK son potentes espasmógenos que actúan únicamente a través del receptor NK₂ en la vejiga humana, así como en la uretra y uréter humanos; Maggi, C.A., *Gen. Pharmacol.* vol. 22, páginas 1-24 (1991). De esta manera, los fármacos deseados para su inclusión en una solución quirúrgica para la utilización en procedimientos urológicos contendría un antagonista de los receptores NK₂ para reducir los espasmos. Los ejemplos de antagonistas adecuados de NK₂ incluyen: ((S)-N-metil-N-[4-(4-acetilamino-4-fenilpiperidino)-2-(3,4-diclorofenil)butil]benzamida (“(±)-SR 48968”); Met-Asp-Trp-Phe-Dap-Leu (“MEN 10.627”) y cyc(Gln-Trp-Phe-Gly-Leu-Met)(“L 659.877”). En la tabla 7 se muestran las concentraciones adecuadas de estos agentes.

TABLA 7

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonistas del subtipo de receptores</u>		
<u>de neuroquinina₂</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
MEN 10.627	1-1.000	10-1.000
L 659.877	10-10.000	100-10.000
(±)-SR 48968	10-10.000	100-10.000

G. Antagonistas de los receptores CGRP

El péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) es un péptido que también se colocaliza en neuronas sensoriales con la sustancia P y que actúa como vasodilatador y potencia las acciones de la sustancia P; Brain, S.D. *et al.*, Inflammatory Oedema Induced by Synergism Between Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) and Mediators of Increased Vascular Permeability, *Br. J. Pharmacol.* 99, página 202 (1985). Un ejemplo de un antagonista de los receptores CORP adecuado es alfa-CGRP-(8-37), una versión truncada de CGRP. Este polipéptido inhibe la activación de los receptores CGRP. En la tabla 8 se indican las concentraciones adecuadas de este agente.

TABLA 8

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonista de los receptores</u>		
<u>CGRP:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
alfa-CGRP-(8-37)	1-1.000	10-500

H. Antagonistas de los receptores de la interleuquina

Las interleuquinas son una familia de péptidos, clasificados como citoquinas, producidas por leucocitos y otras células en respuesta a mediadores inflamatorios. Las interleuquinas (IL) pueden ser potentes agentes hiperalgésicos periféricamente; Ferriera, S.H. *et al.*, Interleukin-1beta as a Potent Hyperalgesic Agent Antagonized by a Tripeptide Analogue, *Nature* 334, página 698 (1988). Un ejemplo de un antagonista de receptores de la IL-1beta es Lys-D-Pro-Thr, que es una versión truncada de IL-1beta. Este tripéptido inhibe la activación de los receptores de IL-1β. En la tabla 9 se muestran las concentraciones adecuadas para este agente.

TABLA 9

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonista de los receptores de la interleuquina:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
Lys-D-Pro-Thr	1-1.000	10-500

I. Inhibidores de los enzimas activos en la ruta sintética de los metabolitos del ácido araquidónico

5

1. Inhibidores de la fosfolipasa

La producción de ácido araquidónico por la fosfolipasa A₂ (PLA₂) resulta en una cascada de reacciones que producen numerosos mediadores de inflamación, conocidos como eicosanoides. Existen varias etapas en esta ruta que pueden ser inhibidas, reduciendo de esta manera la producción de estos mediadores inflamatorios. Posteriormente se proporcionan ejemplos de inhibición en estas diversas etapas.

La inhibición de la isoforma enzimática PLA₂ inhibe la liberación del ácido araquidónico de las membranas celulares y por lo tanto inhibe la producción de prostaglandinas y leucotrienos, resultando en propiedades analgésicas y antiinflamatorias de estos compuestos. Glaser, K.B., Regulation of Phospholipase A2 Enzymes: Selective Inhibitors and Their Pharmacological Potential, *Adv. Pharmacol.* 32, página 31 (1995). Un ejemplo de un agonista isoformo adecuado de la PLA es la manoalida. En la tabla 10 se muestran las concentraciones adecuadas de este agente. La inhibición de la isoforma (PLC γ) también resultará en una producción reducida de prostanoides y leucotrienos y, por lo tanto, resultará en una reducción del dolor y de la inflamación. Un ejemplo de un inhibidor de la isoforma PLC γ es 1-[6-((17 β -3-metoxiestra-1,3,5(10)-trien-17-il)amino)hexil]-1H-pirrol-2,5-diona.

TABLA 10

Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación

<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Inhibidor de la isoforma PLA₂:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
manoalida	100-100.000	500-10.000

2. Inhibidores de la ciclooxigenasa

Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) son ampliamente utilizados como agentes antiinflamatorios, antipiréticos, antitrombóticos y analgésicos; Lewis, R.A., Prostaglandins and Leukotrienes, en: *Textbook of Rheumatology*, 3ª edición (Kelly, W.N. et al., editores), página 258 (1989). Las dianas moleculares de estos fármacos son las ciclooxigenasas de tipo I y II (COX-1 y COX-2). Estos enzimas también son conocidos como prostaglandina H sintasa-1 (constitutiva) y (PGHS)-2 (inducible), y catalizan la conversión del ácido araquidónico en prostaglandina H, que es un intermediario en la biosíntesis de las prostaglandinas y tromboxanos. El enzima COX-2 ha sido identificado en células endoteliales, macrófagos y fibroblastos. Este enzima es inducido por IL-1 y por endotoxina, y su expresión es regulada al alza en los sitios de inflamación. Tanto la actividad constitutiva de COX-1 como la actividad inducida de COX-2 conducen a la síntesis de prostaglandinas que contribuyen al dolor e inflamación.

Los NSAID comercializados en la actualidad (diclofenac, naproxeno e indometacina, ibuprofeno, etc.) generalmente son inhibidores no selectivos de ambas isoformas de COX, pero pueden mostrar una mayor selectividad por COX-1 que por COX-2, aunque esta razón varía para diferentes compuestos. Los usos de inhibidores de COX-1 y de COX-2 para bloquear la formación de prostaglandinas representa una estrategia terapéutica mejor que intentar bloquear las interacciones de los ligandos naturales con los siete subtipos descritos de receptores prostanoides. Los antagonistas de receptores eicosanoides (EP1, EP2, EP3) dados a conocer son bastante raros y sólo se han dado a conocer antagonistas de alta afinidad específicos de los receptores del Tromboxano A₂; Wallace, J. y Cirino, G., *Trends in Pharm. Sci.* vol. 15, páginas 405-406 (1994).

La utilización de los inhibidores de la ciclooxigenasa está contraindicada en pacientes con enfermedad ulcerosa, gastritis o insuficiencia renal. En los Estados Unidos, la única forma inyectable disponible de esta clase de fármacos es el ceterolac (ToradolTM), disponible de Syntex Pharmaceuticals, que convencionalmente se utiliza intramuscular o intravenosamente en el postoperatorio de pacientes aunque, nuevamente, está contraindicado para las categorías de pacientes anteriormente indicadas. La utilización de ceterolac, o de cualquier otro inhibidor o inhibidores de la ciclooxigenasa, en la solución en concentraciones sustancialmente menores que las utilizadas hoy en día perioperatoriamente podría permitir la utilización de este fármaco en pacientes en los que de otra manera estaría contraindicado. La adición de un inhibidor de la ciclooxigenasa a las soluciones de la presente invención añade un mecanismo diferente de inhibición de la producción de dolor e inflamación durante la artroscopia o durante otros procedimientos de cirugía/intervención.

Los inhibidores de ciclooxigenasa preferidos para su utilización en la presente invención son el ceterolac y la indometacina. De estos dos agentes, la indometacina es menos preferida debido a las dosis relativamente altas que se requieren. En la tabla 11 se muestran las concentraciones terapéuticas y preferidas para la utilización en la solución.

5

TABLA 11

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Inhibidores de ciclooxigenasa:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
cetorolac	100-10.000	800-5.000
indometacina	1.000-500.000	10.000-200.000 (más preferentemente: 10.000-100.000)

3. Inhibidores de lipooxigenasa

10

La inhibición del enzima lipooxigenasa inhibe la producción de los leucotrienos, tales como el leucotrieno B₄, del que es conocido que es un importante mediador de la inflamación y el dolor; Lewis, R.A., Prostaglandins and Leukotrienes, en: Textbook of Rheumatology, 3ª edición (Kelley, W.N. *et al.*, editores), página 258 (1989). Un ejemplo de un antagonista de la 5-lipooxigenasa es la 2,3,5-trimetil-6-(12-hidroxi-5,10-dodecadiinil)-1,4-benzoquinona ("AA 861"), de la que se muestran las concentraciones adecuadas en la tabla 12.

15

TABLA 12

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Inhibidor de lipooxigenasa:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
AA 861	100-10.000	500-5.000

20 J. Antagonistas de los receptores de prostanoides

Los prostanoides específicos producidos como metabolitos del ácido araquidónico median sus efectos inflamatorios a través de la activación de los receptores de prostanoides. Los ejemplos de clases de antagonistas específicos de prostanoides son los antagonistas del subtipo de receptores de eicosanoides EP-1 y EP-4 y los antagonistas del subtipo de receptores del tromboxano. Un antagonista adecuado de receptores de prostaglandina E₂ es la 2-acetilhidracida del ácido 8-clorodibenz[b,f][1,4]oxacepina-10(11H)-carboxílico ("SC 19220"). Un antagonista adecuado del subtipo de receptor de tromboxano es el ácido [15-[1 α ,2 β (5Z),3 β ,4 α]-7-[3-[2-(fenilamino)-carbonil]hidracino]metil]-7-oxobicyclo-[2,2,1]-hept-2-il]-5-heptanoico ("SQ 29548"). En la tabla 13 se muestran las concentraciones adecuadas de estos agentes.

25

30

TABLA 13

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonista del eicosanoide EP-1:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
SC 19220	100-10.000	500-5.000

35 K. Antagonistas de los receptores de leucotrieno

Los leucotrienos (LTB₄, LTC₄ y LTD₄) son productos de la ruta de 5-lipoxigenasa del metabolismo del ácido araquidónico que son generados enzimáticamente y que poseen importantes propiedades biológicas. Los leucotrienos están implicados en varias condiciones patológicas, incluyendo la inflamación. En la actualidad muchas empresas farmacéuticas están buscando antagonistas específicos para una potencial intervención terapéutica en estas patologías; Halushka, P.V. *et al.*, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29:213-239 (1989); Ford-Hutchinson, A., *Crit. Rev. Immunol.* 10:1-12 (1990). El receptor LTB₄ se encuentra en ciertas células inmunológicas, incluyendo los eosinófilos y neutrófilos. La unión del LTB₄ a estos receptores resulta en la quimiotaxis y liberación de enzimas lisosómicos, contribuyendo de esta manera al proceso de la inflamación. El proceso de transducción de señales asociado con la activación del receptor LTB₄ implicó la estimulación mediada por la proteína G del metabolismo del fosfotidilo (PI) y la elevación del calcio intracelular.

35

40

45

Un ejemplo de un antagonista adecuado de los receptores del leucotrieno B₄ es el ácido SC(+)-(S)-7-(3-(2-(ciclopropilmetil)-3-metoxi-4-(metilamino)-carbonil]fenoxi(propoxi)-3,4-dihidro-8-propil-2H-1-benzopirán-2-propanoico ("SC 53228"). Las concentraciones de este agente que son adecuadas para la puesta en práctica de la presente invención se muestran en la tabla 14. Otros antagonistas adecuados de los receptores del leucotrieno B₄ incluyen el

50

ácido [3-[2-(7-cloro-2-quinolinil)etenil]fenil] [[3-(dimetilamino-3-oxopropil)tio]metil]tiopropanoico ("MK 0571") y los fármacos LY 66.071 e ICI 20.3219. El MK 0571 también actúa como un antagonista del subtipo de receptores LTD₄.

TABLA 14

5

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonista del leucotrieno B₄:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
SC 53228	100-10.000	500-5.000

L. Agonistas de los receptores de opiáceos

Los receptores de opiáceos son antinociceptivos y, por lo tanto, los agonistas de estos receptores resultan deseables. Los receptores de opiáceos incluyen los subtipos de receptores de mu-opiáceos, delta-opiáceos y kappa-opiáceos. Los receptores μ están localizados en los terminales de las neuronas sensoriales en la periferia y la activación de estos receptores inhibe la actividad de las neuronas sensoriales; Basbaum, A.I. *et al.*, Opiate analgesia: How Central is a Peripheral Target?, *N. Engl. J. Med.* 325:1168 (1991). Los receptores delta y kappa están localizados en las terminales eferentes simpáticas e inhiben la liberación de prostaglandinas, inhibiendo de esta manera el dolor y la inflamación; Taiwo, Y.O. *et al.*, Kappa- and Delta-Opoids Block Sympathetically Dependent Hyperalgesia, *J. Neurosci.*, vol. 11, página 928 (1991). Son ejemplos de agonistas adecuados de receptor de μ -opiáceo el fentanilo y Tri-D-Ala-Gly-[N-MePhe]-NH (CH₂)₂ ("DAMGO"). Un ejemplo de agonista adecuado de receptor de kappa-opiáceo es la [D-Pen²,D-Pen⁵]-encefalina ("DPDPE"). Un ejemplo de un agonista adecuado de receptor de kappa-opiáceo es la acetamida del (trans)-3,4-dicloro-N-metil-N-[2-(1-pirrolidinil)ciclohexil]-benceno ("U50.488"). En la tabla 15 se muestran las concentraciones adecuadas para cada uno de estos agentes.

TABLA 15

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Agonistas de μ-opiáceos:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
DAMGO	0,1-100	0,5-20
fentanilo	0,1-100	0,5-20
<u>Agonista de los receptores de opiáceos</u>		
DPDPE	0,1-500	1,0-100
<u>Agonista de kappa-opiáceo:</u>		
U50,488	0,1-500	1,0-100

M. Antagonistas y agonistas de purinoceptores

El ATP extracelular actúa como una molécula señalizadora a través de interacciones con los purinoceptores P₂. Una clase importante de purinoceptores son los purinoceptores P_{2X}, que son canales iónicos activados por ligando que poseen canales iónicos intrínsecos permeables a Na⁺, K⁺ y Ca²⁺. Los receptores P_{2X} descritos en las neuronas sensoriales son importantes para la neurotransmisión y nocicepción aferentes primarias. Es conocido que el ATP despolariza las neuronas sensoriales y desempeña un papel en la activación de los nociceptores, debido a que el ATP liberado de las células dañadas estimula los receptores P_{2X}, provocando la despolarización de los terminales nociceptivos de la fibra nerviosa. El receptor P_{2X3} presenta una distribución altamente restringida (Chen, C.C. *et al.*, *Nature* vol. 377, páginas 428-431 (1995)), ya que está expresado selectivamente en fibras C de nervios sensoriales que se introducen en la médula espinal y es conocido que muchas de estas fibras C transportan los receptores en los estímulos dolorosos. De esta manera, la localización altamente restringida de la expresión de las subunidades del receptor P_{2X2} hace que estos subtipos sean excelentes dianas para la acción analgésica.

Los antagonistas adecuados de los purinoceptores de ATP de tipo P_{2X} para la utilización en la presente invención incluyen, a título de ejemplo, la suramina y el ácido piridoxilfosfato-6-azofenil-2,4-disulfónico ("PPADS"). En la tabla 16 se muestran las concentraciones adecuadas para estos agentes.

Los agonistas del receptor P_{2Y}, un receptor acoplado a proteína G, es conocido que provocan la relajación de los músculos lisos mediante la elevación de los niveles de (IP₃) con un posterior incremento en el calcio intracelular. Un ejemplo de un agonista de receptor P_{2Y} es el 2-me-S-ATP.

TABLA 16

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonista de purinoceptores:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
suramina	100-100.000	10.000-100.000
PPADS	100-100.000	10.000-100.000

N. Abridores de los canales de potasio sensibles a la adenosina trifosfato (ATP)

5 Se han descubierto canales de potasio sensibles al ATP en numerosos tejidos, incluyendo el cerebro, y los estudios de unión de ligandos marcados radioactivamente han confirmado su existencia. La apertura de estos canales provoca la salida de potasio (K^+) e hiperpolariza la membrana celular. Esta hiperpolarización induce una reducción en el calcio libre intracelular mediante la inhibición de los canales de calcio (Ca^{2+}) dependientes del voltaje y los
10 canales de Ca^{2+} operados por receptores. Estas acciones combinadas conducen a la célula a un estado relajado o a un estado más resistente a la activación. Los abridores de los canales de K^+ (KCO) se ha demostrado que evitan la secreción acoplada a estímulo y se considera que actúan sobre receptores neuronales prejunctionales y de esta manera inhiben los efectos debidos a la estimulación nerviosa y la liberación de los mediadores inflamatorios; Quast, U. *et al.*, Cellular Pharmacology of Potassium Channel Openers in Vascular Smooth Muscle, *Cardiovasc. Res.* 28, páginas 805-810 (1994).

Se han descubierto canales de potasio sensibles al ATP en el músculo liso vascular y no vascular y los estudios de unión con ligandos marcados radioactivamente han confirmado su existencia. La apertura de esos canales hiperpolariza la membrana celular y al hacerlo, consigue un estado relajado en el músculo liso o un estado en el que sea más resistente a la activación, alcanzando así la vasorelajación. Los abridores de los canales de K^+ (KCO) se han caracterizado por poseer una actividad antihipertensiva *in vivo* y una actividad vasorelajante *in vitro*. No existe un precedente conocido en la literatura médica que demuestre la utilización de estos agentes como agentes antiinflamatorios, antinociceptivos y antiespasmódicos de la vejiga.

Se prevé que las interacciones sinérgicas entre los antagonistas de la endotelina (ET_A) y los abridores de los canales de potasio sensibles al ATP (KCO) consigan la vasorelajación o la relajación del músculo liso. Un argumento para su utilización dual se basa en el hecho de que estos fármacos presentan diferentes mecanismos de acción molecular en la promoción de la relajación del músculo liso y en la prevención del vasoespasmo. Una elevación inicial de calcio intracelular en las células del músculo liso inducida por el receptor ET_A posteriormente provoca la activación de los canales dependientes del voltaje y la entrada del calcio extracelular necesario para la contracción. Los antagonistas de los receptores ET_A bloquearán de manera específica este efecto mediado del receptor pero no bloquearán los aumentos en el calcio liberado por la activación de otros receptores combinados con la proteína G en la célula muscular.

Los fármacos abridores de los canales de potasio, tales como el pinacidilo, abren estos canales, provocando la salida de K y la hiperpolarización de la membrana celular. Esta hiperpolarización actuará reduciendo la contracción mediada por otros receptores, a través de los mecanismos siguientes: (1) inducción de una reducción del calcio libre intracelular mediante la inhibición de los canales de Ca dependientes del voltaje, reduciendo la probabilidad de apertura tanto de los canales de calcio de tipo L como de tipo T, (2) restricción de la liberación de Ca inducida por agonistas (canales operados por receptores) procedente de fuentes intracelulares mediante la inhibición de la formación de (IP_3), y (3) reducción de la eficiencia del calcio como activador de las proteínas contráctiles. En consecuencia, las acciones combinadas de estas dos clases de fármacos fijarán las células diana en un estado relajado o en un estado más resistente a la activación.

Los abridores adecuados de los canales de K^+ Sensibles al ATP para la puesta en práctica de la presente invención incluyen: (-)-pinacidilo; cromacalina, nicorandilo; minoxidilo; N-ciano-N'-[1,1-dimetil-[2,2,3,3- 3H]propil]-N''-(3-piridinil)guanidina ("P 1075") y N-ciano-N'-(2-nitroxietil)-3-piridinocarboximidamida monometansulfonato ("KRN 2391"). En la tabla 17 se muestran las concentraciones de estos agentes.

TABLA 17

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agentes</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Abridor de los canales de K^+ sensibles al ATP:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
cromacalina	10-10.000	100-10.000
nicorandilo	10-10.000	100-10.000
minoxidilo	10-10.000	100-10.000
P 1075	0,1-1.000	10-1.000
KRN 2391	1-10.000	100-1.000
(-) pinacidilo	1-10.000	100-1.000

O. Antagonistas de los canales de calcio

5 Los antagonistas de los canales de calcio son un grupo diferenciado de fármacos que interfiere con el flujo transmembranal de iones calcio requerido para la activación de las respuestas celulares que median en la neuroinflamación. La entrada de calcio en las plaquetas y glóbulos blancos de la sangre es un suceso clave que media en la activación de las respuestas en estas células. Además, el papel de los receptores de la bradiquinina y de la neuroquinina (NK_1 y NK_2) en la mediación de la ruta de transducción de señales de la neuroinflamación incluye incrementos en el calcio intracelular, conduciendo de esta manera a la activación de los canales de calcio en la membrana plasmática. En muchos tejidos, los antagonistas de los canales de calcio, tales como la nifedipina, pueden reducir la liberación del ácido araquidónico, de las prostaglandinas y de los leucotrienos, los cuales son evocados por diversos estímulos; Moncada, S., Flower, R. y Vane, J., en: Goodman's and Gilman's Pharmacological Basis of Therapeutics (7ª edición), MacMillan Publ. Inc., páginas 660-665 (1995).

15 Los antagonistas de los canales de calcio también interfieren con el flujo transmembranal de iones calcio requerido por el músculo liso vascular para las contracciones. Este efecto proporciona el argumento para utilizar los antagonistas de calcio en los procedimientos en los que el objetivo es aliviar el vasoespasmo y relajar el músculo liso. Las dihidropiridinas, incluyendo la nisoldipina, actúan como inhibidores específicos (antagonistas) de la activación dependiente del voltaje del subtipo de los canales de calcio de tipo L. La administración sistémica del antagonista de los canales de calcio nifedipina durante la cirugía cardíaca ha sido utilizada en el pasado para prevenir o minimizar el vasoespasmo arterial coronario, Seitelberger, R. *et al.*, *Circulation*, vol. 83, páginas 460-468 (1991). De nuevo, no se conoce ningún precedente en la literatura médica que demuestre la utilización terapéutica de estos agentes como agentes antiinflamatorios, antinociceptivos y antiespasmo de la vejiga.

25 Los antagonistas de los canales de calcio, que se encuentran entre los agentes antidolor/antiinflamación/antiespasmos útiles en la presente invención, muestran un efecto sinérgico cuando se combinan con otros agentes de la presente invención. Los antagonistas de los canales de calcio (Ca^{2+}) y los donadores de óxido nítrico (NO) interactúan en la producción de vasorelajación o relajación de músculo liso, es decir, en la inhibición de la actividad espasmódica. Un argumento a favor de la utilización dual se basa en el hecho de que estos fármacos presentan diferentes mecanismos moleculares de acción, en que pueden no ser completamente efectivos en la producción de relajación al utilizarlos por separado, y en que pueden presentar diferentes periodos de efectividad. De hecho, hay numerosos estudios que demuestran que los antagonistas de los canales de calcio por sí solos no pueden conseguir una relajación completa del músculo vascular que se ha precontraído con un agonista de receptor.

35 El efecto de la nisoldipina, utilizada sola y en combinación con nitroglicerina, sobre el espasmo en la arteria mamaria interna (IMA) ha demostrado que la combinación de los dos fármacos produce un gran efecto sinérgico positivo en la prevención de la contracción (Liu *et al.*, 1994). Estos estudios proporcionan una base científica para combinar un antagonista de los canales de calcio y un donador del óxido nítrico (NO) en la prevención eficaz del vasoespasmo y en la relajación del músculo liso. Se han dado a conocer ejemplos de administración sistémica de nitroglicerina y nifedipina durante la cirugía cardíaca en la prevención y tratamiento de la isquemia miocárdica o del vasoespasmo de las arterias coronarias (Cohen *et al.*, 1983; Seitelberger *et al.*, 1991).

45 Los antagonistas de los canales de calcio también muestran un efecto sinérgico con los antagonistas de los receptores de la endotelina de subtipo A (ET_A). Yanagisawa y colaboradores han observado que los antagonistas dihidropiridina bloqueaban los efectos de ET-1, un agonista endógeno del receptor ET_A en el músculo liso arterial coronario, y por lo tanto especularon que ET-1 era un agonista endógeno de los canales de calcio sensibles al voltaje. Se ha descubierto que la etapa sostenida de elevación del calcio intracelular en las células de músculo liso inducida por la activación del receptor ET_A requería calcio extracelular y era bloqueada por lo menos parcialmente por la nicardipina. De esta manera, la inclusión de un antagonista de los canales de calcio previsiblemente potenciaría sinérgicamente las acciones de un antagonista de ET_A en combinación en una solución quirúrgica.

55 Los antagonistas de los canales de calcio y los abridores de los canales de potasio sensibles al ATP muestran, de manera similar, una acción sinérgica. Los canales de potasio que son sensibles al ATP (K_{ATP}) acoplan el potencial de membrana de una célula al estado metabólico de la célula a través de su sensibilidad a los nucleótidos adenosina. Los canales K_{ATP} son inhibidos por el ATP intracelular pero son estimulados por los nucleótidos difosfato intracelulares. La actividad de estos canales es controlada por la fuerza motora electroquímica del potasio y por señales intracelulares (por ejemplo ATP o una proteína G) pero no son activados por el potencial de membrana de por sí. Los canales K_{ATP} hiperpolarizan la membrana y de esta manera les permiten controlar el potencial de reposo de la célula. Se han descubierto corrientes de potasio sensibles al ATP en músculo esquelético, cerebro y músculo liso vascular y no vascular. Los estudios de unión con ligandos marcados radioactivamente han confirmado la existencia de canales de potasio sensibles al ATP que son receptores diana de los fármacos abridores de los canales de potasio, tales como el pinacidilo. La apertura de estos canales provoca la salida de potasio e hiperpolariza la membrana celular. Esta hiperpolarización (1) induce una reducción en el calcio libre intracelular a través de la inhibición de los canales de Ca^{2+} dependientes del voltaje al reducir la probabilidad de apertura de los canales de calcio de tipo L o T, (2) restringe la liberación de Ca^{2+} inducida por agonistas (en canales operados por

receptores) desde fuentes intracelulares a través de la inhibición de la formación de inositol trifosfato (IP₃), y (3) reduce la eficiencia del calcio como activador de las proteínas contráctiles. Las acciones combinadas de estas dos clases de fármacos (abridores de canales de potasio sensibles al ATP y antagonistas de los canales de calcio) fijará las células diana en un estado relajado o en un estado más resistente a la activación.

Finalmente, los antagonistas de los canales de calcio y los antagonistas taquiquinina y bradiquinina muestran efectos sinérgicos en la mediación de la neuroinflamación. Se ha establecido el papel que presenta el receptor neuroquinina en la mediación de la neuroinflamación. La ruta de transducción de señales de los receptores neuroquinina₁ (NK₁) y neuroquinina₂ (NK₂) (miembros de la superfamilia de receptores acoplados a proteína G) incluye un incremento del calcio intracelular, que conduce de esta manera a la activación de los canales de calcio en la membrana plasmática. De manera similar, la activación de los receptores bradiquinina₂ (BK₂) está acoplada con un incremento del calcio intracelular. De esta manera, los antagonistas de los canales de calcio interfieren con un mecanismo común que implica la elevación del calcio intracelular, parte del cual entra a través de canales de tipo L. Ésta es la base para la interacción sinérgica entre los antagonistas de los canales de calcio y los antagonistas a estos receptores.

Los antagonistas adecuados de los canales de calcio para la puesta en práctica de la presente invención incluyen nisoldipina, nifedipina, nimodipina, lacidipina y isradipina. En la tabla 18 se indican las concentraciones adecuadas de estos agentes.

Los antagonistas de canales de calcio adecuados para la práctica de la presente invención incluyen la nisoldipina, nifedipina, nimodipina, lacidipina e isradipina. Las concentraciones adecuadas para estos agentes se indican en la Tabla 18.

TABLA 18

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonistas de los canales de calcio:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
nisoldipina	1-10.000	100-1.000
nifedipina	1-10.000	100-5.000
nimodipina	1-10.000	100-5.000
lacidipina	1-10.000	100-5.000
isradipina	1-10.000	100-5.000

P. Agentes antiespasmódicos

1. Agentes multifuncionales

Varios agentes antidolor/antiinflamatorios indicados anteriormente también sirven para inhibir la vasoconstricción o espasmo de músculo liso. Como tales, estos agentes también llevan a cabo la función de agente antiespasmódico y de esta manera se utilizan ventajosamente en aplicaciones vasculares y urológicas. Los agentes antiinflamatorios/antidolor que también sirven como agentes antiespasmódicos incluyen: antagonistas de los receptores de la serotonina, particularmente los antagonistas de la serotonina₂; antagonistas de los receptores de la taquiquinina y los abridores de los canales de potasio sensibles al ATP.

2. Donadores de óxido nítrico

Pueden incluirse donadores de óxido nítrico en las soluciones de la presente invención particularmente por su actividad antiespasmódica. El óxido nítrico (NO) desempeña un papel crítico como mediador molecular en muchos procesos fisiológicos, incluyendo la vasodilatación y la regulación del tono vascular normal. Dentro de las células endoteliales, un enzima conocido como NO sintasa (NOS) cataliza la conversión de la L-arginina en NO, que actúa como un segundo mensajero difundible y media en las respuestas que ocurren en las células de músculo liso adyacentes. El NO es continuamente formado y liberado por el endotelio vascular bajo condiciones basales que inhiben las contracciones y controlan el tono coronario basal y es producido en el endotelio en respuesta a diversos agonistas (tales como la acetilcolina) y otros vasodilatadores dependientes del endotelio. De esta manera, la regulación de la actividad de la NO sintasa y los niveles resultantes de NO son las dianas moleculares clave que controlan el tono vascular (ver figura 8); Muramatsu, K. *et al.*, *Coron. Artery Dis.*, vol. 5, páginas 815-820 (1994).

Las interacciones sinérgicas entre los donadores de NO y los abridores de canales de potasio sensibles al ATP (KCO) es previsible que produzcan la vasorelajación o relajación del músculo liso. Un argumento para su utilización dual se basa en el hecho de que estos fármacos presentan diferentes mecanismos de acción molecular en la promoción de la relajación del músculo liso y en la prevención del vasoespasmo. Hay evidencia de cultivos de células de músculo liso arterial coronario de que los vasoconstrictores vasopresina, angiotensina II y endotelina, inhiben las corrientes en los K_{ATP} mediante la inhibición de la proteína quinasa A. Además, se ha dado a conocer

que la corriente en los K_{ATP} en el músculo liso de vejiga es inhibida por los agonistas muscarínicos. Las acciones del NO en la mediación de la relajación del liso se producen mediante rutas moleculares independientes (descritas anteriormente) que implican la proteína quinasa G. Esto sugiere que la combinación de dos fármacos será más eficaz para relajar el músculo liso que la utilización de únicamente un único fármaco.

Los donadores de óxido nítrico adecuados para la puesta en práctica de la presente invención incluyen la nitroglicerina, nitroprusido sódico, fármaco, 3-morfolinosisdononimina o linsidomina clorhidrato ("SIN-1") y la S-nitroso-N-acetilpenicilamina ("SNAP"). En la tabla 19 se indican las concentraciones para estos agentes.

TABLA 19

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Donadores de óxido nítrico:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
Nitroglicerina	10-10.000	100-1.000
nitroprusido sódico	10-10.000	100-1.000
SIN-1	10-10.000	100-1.000
SNAP	10-10.000	100-1.000
FK 409	1-1.000	10-100

3. Antagonistas de los receptores de la endotelina

La endotelina es un péptido de 21 aminoácidos que es uno de los vasoconstrictores más potentes que se conocen. Se han descrito tres péptidos endotelina humanos diferentes, denominados ET-1, ET-2 y ET-3, que median sus efectos fisiológicos mediante por lo menos dos subtipos de receptor denominados receptores ET_A y ET_B . Los músculos liso cardíaco y vascular contienen predominantemente receptores ET_A y este subtipo es responsable de la contracción en estos tejidos. Además, los receptores ET_A con frecuencia se ha observado que median las respuestas contráctiles en preparaciones aisladas de músculo liso. Se ha descubierto que los antagonistas de los receptores ET_A son potentes antagonistas de las contracciones de las arterias coronarias humanas. De esta manera, los antagonistas de los receptores ET_A serán terapéuticamente beneficiosos en la inhibición perioperatoria del vasoespasma coronario y además pueden resultar útiles en la inhibición de la contracción del músculo liso en aplicaciones urológicas; Miller, R.C. *et al.*, *Trends in Pharmacol. Sci.* vol. 14, páginas 54-60 (1993).

Los antagonistas adecuados del receptor endotelina incluyen: ciclo(D-Asp-Pro-D-Val-Leu-D-Trp)("BQ 123"); (N,N-hexametileno)-carbamoil-Leu-D-Trp-(CHO)-D-Trp-OH ("BQ 610"); ácido (R)2-([R-2-[(s)-2-[[1-hexahidro-1H-acepinil]-carbonil]amino-4-metil-pentanoil] amino-3-(3[1-metil-1H-indodil])propionilamino-3(2-piridil)propiónico ("FR 139317"); ciclo(D-Asp-Pro-D-Ile-Leu-D-Trp) ("JKC 301"); ciclo(D-Ser-Pro-D-Val-Leu-D-Trp) ("JK 302"); 5-(dimetilamino)-N-(3,4-dimetil-5-isoxazolil)-1-naftalenosulfonamida ("BMS 182874"). En la tabla 20 se muestran las concentraciones para un grupo representativo de tres de estos agentes.

TABLA 20

<u>Concentraciones terapéuticas y preferidas de los agentes inhibidores del dolor/inflamación</u>		
<u>Agente</u>	<u>Concentraciones terapéuticas</u>	<u>Concentraciones preferidas</u>
<u>Antagonistas de los receptores de la endotelina:</u>	<u>(nanomolar)</u>	<u>(nanomolar)</u>
BQ 123	0,01-1.000	10-1.000
FR 139317	1-100.000	100-10.000

VI. Procedimiento de aplicación

La solución de la presente invención presenta aplicaciones para una diversidad de procedimientos operatorios/intervencionistas, incluyendo técnicas quirúrgicas, diagnósticas y terapéuticas. Las aplicaciones incluyen la utilización como solución de irrigación aplicada perioperatoriamente durante la cirugía artroscópica de articulaciones anatómicas, procedimientos urológicos y los procedimientos terapéuticos y diagnósticos intravasculares. Tal como se utiliza en la presente memoria, el término "perioperatorio" hace referencia a la aplicación de la solución durante el curso de un procedimiento médico interventivo o quirúrgico, y para muchos procedimientos también implicará preferentemente la aplicación de la solución antes de iniciar el procedimiento. Tales procedimientos convencionalmente utilizan fluidos de irrigación fisiológicos, tales como solución salina normal o solución de lactato de Ringer, aplicados al sitio quirúrgico mediante técnicas bien conocidas por los expertos ordinarios en la materia. La utilización de la presente invención implica sustituir las soluciones de irrigación antidolor/antiinflamatorias/antiespasmódicas de la presente invención por fluidos de irrigación aplicados convencionalmente. La solución de irrigación se aplica a la herida o al sitio quirúrgico previamente al inicio del procedimiento, preferentemente antes del traumatismo del tejido y continuamente durante todo el procedimiento, para bloquear preventivamente el dolor y la inflamación y/o el espasmo. Tal como se utiliza en todo el presente documento, el término "irrigación" se pretende que signifique el lavado de una herida o estructura anatómica con un

flujo de líquido. Tal como se utiliza en todo el presente documento, el término “continuamente” se pretende que también incluya situaciones en las que hay una irrigación repetida y frecuente de heridas a una frecuencia suficiente para mantener una concentración terapéutica local predeterminada de los agentes aplicados, y aplicaciones en las que puede haber un cese intermitente del flujo de fluido de irrigación necesario para la técnica operatoria.

Las técnicas artroscópicas para las que puede utilizarse la presente solución incluyen a título de ejemplo no limitativo las meniscectomías parciales y las reconstrucciones de ligamentos en la rodilla, las acromioplastias de hombro, los desbridamientos del manguito de los rotadores, las sinovectomías de codo y las artroscopias de muñeca y de tobillo. La solución de irrigación se suministra en continuo intraoperatoriamente a la articulación a un caudal suficiente para distender la cápsula articular, para eliminar residuos operatorios y para permitir la visualización intraarticular sin obstrucciones.

En el Ejemplo 1 del presente documento posteriormente se proporciona una solución de irrigación adecuada para el control del dolor y el edema durante tales técnicas artroscópicas. Para la artroscopia, es preferible que la solución incluya una combinación, y preferentemente todas, o cualquiera de los siguientes: un antagonista de receptores de la serotonina₂, un antagonista de los receptores de la serotonina₃, un antagonista de los receptores de la histamina₁, un agonista de los receptores de la serotonina que actúe sobre los receptores 1A, 1B, 1D, 1F y/o 1E, un antagonista de los receptores de la bradiquinina₁, un antagonista de los receptores de la bradiquinina₂ y un inhibidor de la ciclooxigenasa, y preferentemente todos los agentes anteriormente mencionados.

Esta solución utiliza dosis extremadamente bajas de estos inhibidores del dolor y la inflamación, debido a la aplicación local de los agentes directamente en el sitio operatorio durante el procedimiento. Por ejemplo, son necesarios menos de 0,05 mg de amitriptilina (un antagonista “dual” adecuado de los receptores de la serotonina₂ y de la histamina₁) por litro de fluido de irrigación para proporcionar las concentraciones efectivas deseadas localmente en el tejido que inhibirían los receptores 5-HT₂ y H₁. Esta dosis es extremadamente baja en comparación con los 10 a 25 mg de amitriptilina oral que es la dosis inicial utilizada habitualmente con este fármaco.

En cada una de las soluciones quirúrgicas de la presente invención, los agentes se incluyen en concentraciones bajas y se administran localmente en dosis bajas en comparación con las concentraciones y dosis requeridas con los procedimientos convencionales de administración de fármacos para conseguir el efecto terapéutico deseado. Es imposible obtener un efecto terapéutico equivalente administrando agentes dosificados de manera similar a través de otras rutas de administración de fármacos (es decir, intravenosamente, intramuscularmente u oralmente) debido a que los fármacos administrados sistémicamente se ven sometidos a metabolismo de primer y segundo paso.

Por ejemplo, utilizando un modelo de artroscopia en la rata, los inventores examinaron la capacidad de la amitriptilina, un antagonista 5-HT₂, de inhibir la extravasación plasmática inducida por 5-HT en la rodilla de rata de acuerdo con la presente invención. Este estudio, descrito en más detalle en el Ejemplo VIII, comparaba la dosificación terapéutica de la amitriptilina administrada localmente (es decir, intraarticularmente) en la rodilla e intravascularmente. Los resultados demostraron que la administración intraarticular de amitriptilina requería niveles de dosificación total aproximadamente 200 veces menores que los requeridos a través de la ruta intravenosa para obtener el mismo efecto terapéutico. Dado que sólo una fracción pequeña del fármaco administrado intraarticularmente es absorbido por el tejido sinovial local, la diferencia en los niveles plasmáticos de fármaco entre las dos rutas de administración es mucho mayor que la diferencia en los niveles de dosificación totales de amitriptilina.

Debe distinguirse la práctica de la presente invención de las inyecciones intraarticulares convencionales de opiáceos y/o de anestésicos locales al final de los procedimientos artroscópicos o “abiertos” de articulación (por ejemplo de rodilla, de hombro, etc.). La solución de la presente invención se utiliza para la infusión continua durante todo el procedimiento quirúrgico para proporcionar una inhibición preventiva del dolor y la inflamación. En contraste, las concentraciones elevadas necesarias para conseguir eficacia terapéutica con una infusión constante de anestésicos locales, tales como lidocaína (soluciones de 0,5 a 2%) resultarían en una profunda toxicidad sistémica.

Al completar el procedimiento, podría resultar deseable inyectar, o de otro modo, aplicar una concentración más alta de los mismos inhibidores del dolor y la inflamación que los utilizados en la solución de irrigación en el sitio operatorio, como alternativa o suplemento a los opiáceos.

La solución de la presente invención presenta asimismo aplicaciones en los procedimientos diagnósticos y terapéuticos intravasculares para reducir potencialmente el espasmo de la pared vascular, la agregación plaquetaria, y la activación de nociceptores producida por la manipulación de los vasos. Una solución adecuada para tales técnicas se da a conocer en el Ejemplo II posteriormente en el presente documento. La solución intravascular preferentemente incluye cualquier combinación, y preferentemente todos, de los siguientes: un antagonista de los receptores 5-HT₂ (Saxena, P.R. *et al.*, Cardiovascular Effects of Serotonin Inhibitory Agonists and Antagonists, *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 15 (Supl. 7), páginas S17-S34 (1990); Douglas, 1985); un antagonista de los receptores 5-HT₃ para bloquear la activación de estos receptores en las neuronas simpáticas y las fibras C de las neuronas nociceptivas en las paredes vasculares, que se ha demostrado que provocan bradicardia y taquicardia (Saxena *et al.*, 1990); un antagonista de los receptores de la bradiquinina₁; y un inhibidor de la ciclooxigenasa para evitar la

producción de prostaglandinas en los sitios de lesión de tejidos lo que reduce el dolor y la inflamación. Además, la solución intravascular preferentemente también contendrá un antagonista de la serotonina_{1B} (también conocida como serotonina_{1DB}) porque se ha demostrado que la serotonina provoca espasmos vasculares significativos mediante la activación de los receptores de la serotonina_{1B} en el hombre; Kaumann, A.J. *et al.*, Variable Participation of 5-HT₁-Like Receptors and 5-HT₂ Receptors in Serotonin-Induced Contraction of Human Isolated Coronary Arteries, *Circulation* 90, páginas 1141-1153 (1994). Esta acción excitatoria de los receptores de la serotonina_{1B} en las paredes vasculares, que resulta en la vasoconstricción, contrasta con la acción inhibitoria anteriormente comentada de los receptores de la serotonina_{1B} en las neuronas. En el contexto de la solución intravascular, el término “agentes inhibidores del dolor/inflamación” también se refiere a espasmos de la pared vascular y a agentes inhibidores de la agregación de plaquetas.

La solución de la presente invención también resulta útil para reducir el dolor e inflamación asociados con los procedimientos urológicos, tales como la resección transuretral de la próstata y procedimientos urológicos similares que utilizan el láser. Algunos estudios han demostrado que la serotonina, histamina y bradiquinina provocan inflamación de los tejidos del tracto urinario inferior; Schwartz, M.M. *et al.*, Vascular Leakage in the Kidney and Lower Urinary Tract: Effects of Histamin, Serotonin and Bradykinin, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 140, páginas 535-539 (1972). Una solución de irrigación adecuada para los procedimientos urológicos se da a conocer en el Ejemplo III posteriormente en el presente documento. La solución preferentemente incluye una combinación, y preferentemente todos, de entre los siguientes: un antagonista de los receptores de la histamina₁ para inhibir el dolor e inflamación inducidos por histamina; un antagonista de los receptores 5-HT₃ para bloquear la activación de estos receptores en las fibras C de las neuronas nociceptivas periféricas; un antagonista de la bradiquinina₁; un antagonista de la bradiquinina₂; y un inhibidor de la ciclooxigenasa para reducir el dolor/inflamación producido por las prostaglandinas en los sitios de lesión de los tejidos. Puede asimismo incluirse un agente antiespasmódico para prevenir el espasmo en el canal uretral y pared de la vejiga.

La solución de la presente invención también puede utilizarse perioperatoriamente para la inhibición del dolor y la inflamación en heridas quirúrgicas, así como para reducir el dolor y la inflamación asociados con quemaduras. Las quemaduras conllevan la liberación de una cantidad significativa de aminas biogénicas, que no sólo producen dolor e inflamación, sino que también conllevan la extravasación plasmática profunda (pérdida de fluido), a menudo un componente de quemaduras graves peligroso para la salud. Holliman, C.J., *et. al.*, *The effect of Ketanserin, a Specific Sertonin Antagonist, on Burn Shock Hemodynamic Parameters in a Porcine Burn Model*, *J Trauma* 23, páginas 867 a 871 (1983). La solución de la presente invención también puede utilizarse perioperatoriamente para la inhibición del dolor y la inflamación en heridas quirúrgicas. La solución que se da a conocer en el Ejemplo I para la artroscopia también puede aplicarse adecuadamente a una herida para el control del dolor y la inflamación. Los agentes de la solución del Ejemplo I alternativamente pueden estar en una pasta o base de pomada para la aplicación en la herida.

VII. Ejemplos

Las siguientes son varias formulaciones de acuerdo con la presente invención adecuadas para determinados procedimientos operatorios seguido de un sumario de tres estudios clínicos que utilizan los agentes de la presente invención.

A. EJEMPLO 1

Solución de irrigación para artroscopia

La composición siguiente es adecuada para la utilización en la irrigación de una articulación anatómica durante procedimientos artroscópicos. Cada fármaco se solubiliza en un líquido portador que contiene electrolitos fisiológicos, tales como solución salina normal o solución de lactato de Ringer, al igual que las soluciones restantes descritas en los ejemplos posteriores.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la serotonina ₂	amitriptilina	0,1-1.000	50-500	100
antagonista de la serotonina ₃	metoclopramida	10-10.000	200-2.000	1.000
antagonista de la histamina ₁	amitriptilina	0,1-1.000	50-500	200
agonista de la serotonina _{1A,1B,1D,1F}	sumatriptán	1-1.000	10-200	50
antagonista de la bradiquinina ₁	derivado[des-Arg ¹⁰] de HOE 140	1-1.000	50-500	200
antagonista de la bradiquinina ₂	HOE 140	1-1.000	50-500	200

B. EJEMPLO IISolución de irrigación para procedimientos terapéuticos intravasculares

- 5 Los siguientes fármacos e intervalos de concentración en solución en un líquido fisiológico portador son adecuados para su utilización en la irrigación de sitios operatorios durante procedimientos intravasculares.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la serotonina ₂	trazodona	0,1-1.000	50-500	200
antagonista de la serotonina ₃	metoclopramida	10-10.000	200-2.000	1.000
antagonista de la serotonina _{1B}	yohimbina	0,1-1.000	50-500	200
antagonista de la bradiquinina ₁	derivado[des-Arg ¹⁰] de HOE 140	1-1.000	50-500	200
inhibidor de la ciclooxigenasa	cetorolac	100-10.000	800-5.000	3.000

C. EJEMPLO IIISolución de irrigación para procedimientos urológicos

- 15 Los siguientes fármacos e intervalos de concentración en solución en un líquido fisiológico portador son adecuados para su utilización en la irrigación de sitios operatorios durante procedimientos urológicos.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la Histamina ₁	Terfenadina	0,1-1.000	50-500	200
antagonista de la serotonina ₃	metoclopramida	10-10.000	200-2.000	1.000
antagonista de la bradiquinina ₁	derivado[des-Arg ¹⁰] de HOE 140	1-1.000	50-500	200
antagonista de la bradiquinina ₂	HOE 140	1-1.000	50-500	200
inhibidor de la ciclooxigenasa	cetorolac	100-10.000	800-5.000	3.000

D. EJEMPLO IV

- 20 Solución de irrigación para artroscopia, quemaduras, heridas quirúrgicas y aplicaciones orales/dentales generales

- 25 Se prefiere la siguiente composición para su utilización en la irrigación anatómica durante artroscopias y el control de heridas quirúrgicas generales. Aunque la solución indicada en el Ejemplo I es adecuada para su utilización con la presente invención, la solución siguiente es todavía más preferida debido a su previsible mayor eficacia.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la serotonina ₂	amitriptilina	0,1-1.000	50-500	200
antagonista de la serotonina ₃	metoclopramida	10-10.000	200-2.000	1.000
antagonista de la histamina ₁	amitriptilina	0,1-1.000	50-500	200
agonista de la serotonina _{1A,1B,1D,1F}	sumatriptán	1-1.000	10-200	100
inhibidor de la ciclooxigenasa	cetorolac	100-10.000	800-5.000	3.000
antagonista de la neuroquinina ₁	GR 82334	1-1.000	10-500	200
antagonista de la neuroquinina ₂	(±) SR 48968	1-1.000	10-500	200
antagonista de purina _{2X}	PPADS	100-100.000	10.000-100.000	50.000
agonista de canales de K ⁺ sensibles al ATP	(-)pinacidoilo	1-10.000	100-1.000	500
antagonista de canales de Ca ²⁺	nifedipina	1-10.000	100-5.000	1.000
inhibidor de la calicreína	aprotinina	0,1-1.000	50-500	200

E. EJEMPLO V**Solución de irrigación para procedimientos terapéuticos intravasculares**

- 5 Se prefieren los siguientes fármacos e intervalos de concentración en solución en un líquido fisiológico portador para su utilización en la irrigación de los sitios operatorios durante procedimientos intravasculares. Nuevamente, se prefiere dicha solución respecto a la solución indicada en el Ejemplo II anteriormente por su eficacia más elevada.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la serotonina ₂	trazodona	0,1-1.000	50-500	200
inhibidor de la ciclooxigenasa	cetorolac	100-10.000	800-5.000	3.000
antagonista de endotelina	BQ 123	0,01-1.000	10-1.000	500
agonista de canales de K ⁺ sensible al ATP	(-)pinacidilo	1-10.000	100-1.000	500
antagonista de canales de Ca ²⁺	nisoldipina	1-10.000	100-1.000	500
donador de óxido nítrico	SIN-1	10-10.000	100-1.000	500

F. EJEMPLO VI**Solución de irrigación para procedimientos urológicos**

- 15 Se prefieren los siguientes fármacos e intervalos de concentración en solución en un líquido fisiológico portador para su utilización en la irrigación de los sitios operatorios durante procedimientos urológicos. La solución presenta incluso una mayor eficacia que la solución dada a conocer en el ejemplo III anterior.

<u>Clase de agente</u>	<u>Fármaco</u>	<u>Concentración (nanomolar): Terapéutica</u>	<u>Preferida</u>	<u>Más preferida</u>
antagonista de la serotonina ₂	LY 53857	0,1-500	1-100	50
antagonista de la histamina ₁	terfenadina	0,1-1.000	50-500	200
inhibidor de la ciclooxigenasa	cetorolac	100-10.000	800-5.000	3.000
antagonista de la neuroquinina ₂	SR 48968	1-1.000	10-500	200
antagonista de la purina _{2x}	PPADS	100-100.000	100.000	50.000
agonista de los canales de K ⁺ sensible al ATP	(-)pinacidilo	1-10.000	100-1.000	500
antagonista de los canales de Ca ²⁺	nifedipina	1-10.000	100-5.000	1.000
inhibidor de la calicreína	aprotinina	0,1-1.000	50-500	200
donador de óxido nítrico	SIN-1	10-10.000	100-1.000	500

G. EJEMPLO VII**Dilatación con balón de arterias ilíacas normales en el conejo blando de Nueva Zelanda e influencia del bloqueo de los receptores de histamina/serotonina sobre la respuesta**

- 25 El propósito del presente estudio era doble. En primer lugar, se utilizó un nuevo modelo *in vivo* para el estudio del tono arterial. El curso temporal de los cambios en las dimensiones arteriales antes y después de la angioplastia con balón se describe posteriormente. En segundo lugar, se examinó a continuación el papel de la combinación de histamina y serotonina en el control del tono arterial en este contexto mediante la infusión selectiva de agentes bloqueantes de los receptores de histamina y de serotonina en las arterias antes y después de la lesión producida por la angioplastia.

1. Consideraciones de diseño

- 35 El presente estudio pretendía describir el curso de los cambios en las dimensiones del lumen arterial en un grupo de arterias y evaluar el efecto del bloqueo de los receptores de histamina/serotonina sobre estos cambios en un segundo grupo de arterias similares. Con el fin de facilitar la comparación de los dos grupos diferentes, ambos grupos fueron tratados de manera idéntica con la excepción del contenido de una infusión llevada a cabo durante el experimento. En los animales de control (arterias), la infusión fue con solución salina normal (el vehículo para la solución de prueba). Las arterias tratadas con bloqueante de receptores de histamina/serotonina recibieron solución salina que contenía agentes de bloqueo en la misma tasa y en la misma parte del protocolo que los animales de control. Específicamente, la solución de prueba incluía: (a) el antagonista de la serotonina₃ metoclopramida a una

concentración de 16,0 μM ; (b) el antagonista de la serotonina₂ trazodona a una concentración de 1,6 μM ; y (c) el antagonista de la histamina prometacina a una concentración de 1,0 μM , todos en solución salina normal. El presente estudio se llevó a cabo de una manera prospectiva, aleatorizada y ciega. La asignación a grupos específicos fue aleatoria y los investigadores no conocían el contenido de la solución de infusión (solución salina únicamente o solución salina que contenía los antagonistas de los receptores de histamina/serotonina) hasta completar el análisis angiográfico.

2. Protocolo con animales

El presente protocolo fue aprobado por el Seattle Veteran Affairs Medical Center Committee on Animal Use y la instalación está completamente certificada por la American Association for Accreditation of Laboratory Animal Care. Se estudiaron las arterias ilíacas de conejos blancos de Nueva Zelanda macho de 3 a 4 kg alimentados con alimentos normales de conejo. Los animales se sedaron utilizando xilacina intravenosa (5 mg/kg) y Cetamina (35 mg/kg) dosificados para ser efectivos y se llevó a cabo un corte en la línea central ventral del cuello con el fin de aislar una arteria carótida. La arteria se ligó distalmente, se llevó a cabo una arteriotomía y se introdujo una vaina de 5 French en la aorta descendente. Se registró la presión sanguínea y tasa cardíaca basales y después se registró un angiograma de las arterias aorta distal e ilíaca bilateral en película de cine de 35 mm (frecuencia de cuadro de 15 por segundo) utilizando inyección manual de yopamidol al 76% (Squibb Diagnostics, Princeton, NJ) en la aorta descendente. Para cada angiograma, se colocó un objeto de calibración en el campo de visión radiográfica para permitir la corrección de magnificación al realizar las mediciones de diámetros. Se colocó un catéter de infusión de 2,5 French (Advanced Cardiovascular Systems, Santa Clara, CA) a través de la vaina carótida y se posicionó 1 a 2 cm por encima de la bifurcación aórtica. La infusión de la solución de prueba (solución salina únicamente o solución salina que contenía los antagonista de receptores de histamina/serotonina) se inició a una tasa de 5 cc por minuto y se prolongó durante 15 minutos. A los 5 minutos de iniciar la infusión, se llevó a cabo un segundo angiograma utilizando la técnica anteriormente descrita, después se introdujo rápidamente un catéter de angioplastia con balón de 2,5 mm (the Lightning, Cordis Corp., Miami, FL) con guía fluoroscópica en las arterias ilíacas izquierda y derecha. En cada ilíaca se colocó cuidadosamente el balón-catéter entre las ramas femorales profundas proximal y distal utilizando marcas óseas de orientación y el balón se infló durante 30 segundos hasta 12 atmósferas de presión. El balón-catéter se infló utilizando una solución diluida de agente de contraste angiográfico de manera que el diámetro del balón inflado pudiese registrarse en película de cine. El catéter de angioplastia se retiró rápidamente y se registró otro angiograma en película de cine una media de 8 minutos después de iniciar la infusión. La infusión continuó hasta el minuto 15 y se realizó otro angiograma (el cuarto). A continuación se detuvo la infusión (se habían infundido un total de 75 cc de solución) y se retiró el catéter de infusión. A los 30 minutos (15 minutos después de detener la infusión) se registró un angiograma final de la misma manera que anteriormente. Se registraron la presión sanguínea y la tasa cardíaca a los 15 y a los 30 minutos inmediatamente después de llevar a cabo los angiogramas. Tras el angiograma final, el animal se sacrificó con una sobredosis de agentes anestésicos administrados intravenosamente y se extirparon las arterias ilíacas y se fijaron en formación mediante inmersión para efectuar los análisis histológicos.

3. Análisis angiográfico

Los angiogramas se registraron sobre película de cine de 35 mm a una frecuencia de cuadro de 15 por segundo. Para el análisis, los angiogramas se proyectaron con un proyector Vanguard a una distancia de 5,5 pies. Los diámetros de la arteria ilíaca en localizaciones previamente especificadas respecto al sitio de la angioplastia con balón se registraron basándose en mediciones con calibrador manual tras la corrección de magnificación mediante medición del objeto de calibración. Las mediciones se realizaron en la línea de base (antes de iniciar la infusión con solución de prueba), 5 minutos tras iniciar la infusión, inmediatamente después de la angioplastia con balón (una media de 8 minutos tras iniciar la infusión con solución de prueba), a los 15 minutos (justo antes de detener la infusión) y a los 30 minutos (15 minutos después de detener la infusión). Las mediciones de diámetros se realizaron en los tres sitios en cada arteria ilíaca: proximalmente al sitio de dilatación del balón, en el sitio de dilatación del balón y justo distalmente al sitio de dilatación del balón.

A continuación las mediciones de diámetros se convirtieron a medidas de área mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Área} = (\text{Pi})(\text{Diámetro}^2)/4$$

Para el cálculo de la vasoconstricción, se utilizaron valores de base para representar el área máxima de la arteria y el porcentaje de vasoconstricción se calculó de la manera siguiente:

$$\% \text{ Vasoconstricción} = \{(\text{Área base} - \text{Área en un punto temporal posterior}) / \text{Área de base}\} \times 100$$

4. Procedimientos estadísticos

Todos los valores se expresaron como medias ± 1 error estándar respecto a la media. El curso temporal de respuesta vasomotora en las arterias de control se evaluó utilizando el análisis de varianza de una sola dirección con corrección por mediciones repetidas. La comparación post hoc de los datos entre puntos temporales específicos se

llevó a cabo utilizando la prueba de Scheffe. Tras determinar los puntos temporales en las arterias de control en los que se había producido una vasoconstricción significativa, se compararon las arterias que habían sido tratadas con antagonistas de los receptores de histamina/serotonina en dichos puntos temporales en los que se había producido vasoconstricción significativa en las arterias de control utilizando análisis de varianza múltiple, identificando el grupo de tratamiento como una variable independiente. Con el fin de compensar por la ausencia de una única hipótesis planteada *a priori*, se consideró significativo un valor de $p < 0,01$. Se llevaron a cabo los cálculos estadísticos utilizando Statistica para Windows, versión 4.5 (Statsoft, Tulsa, OK).

5. Resultados

El curso temporal de los cambios de dimensiones arteriales antes y después de la angioplastia con balón en arterias normales que recibieron infusión con solución salina se evaluó en 16 arterias de 8 animales (tabla 21). Se estudiaron tres segmentos de cada arteria: el segmento proximal inmediatamente corriente arriba del segmento dilatado con balón, el segmento dilatado con balón y el segmento distal inmediatamente corriente abajo del segmento dilatado con balón. Los segmentos proximal y distal mostraron patrones de cambio similares en dimensiones arteriales: en cada uno se observó un cambio significativo en el diámetro arterial al compararon todos los puntos temporales (segmento proximal, $p = 0,0002$ y segmento distal, $p < 0,001$, ANOVA). Las pruebas post hoc indicaron que los diámetros en el punto temporal inmediatamente posterior a la angioplastia eran significativamente inferiores a los diámetros en la línea base o en el punto temporal de los 30 minutos en cada uno de estos segmentos. Por otro lado, los diámetros arteriales en cada segmento a los 5 minutos, a los 15 minutos y a los 30 minutos fueron similares a los diámetros de línea base. El segmento dilatado con balón mostró cambios menores en dimensión arterial que los segmentos proximal y distal. El diámetro de línea base de dicho segmento fue de $1,82 \pm 0,05$ mm; el diámetro inflado nominal del balón utilizado para la angioplastia era de 2,5 mm y el diámetro inflado medido actualmente del balón fue de $2,20 \pm 0,03$ mm ($p < 0,0001$ frente al diámetro de línea base del segmento tratado con balón). De esta manera, el balón inflado provocó un estiramiento circular del segmento dilatado con balón, pero sólo se produjo un ligero incremento en diámetro de lumen respecto a la línea base en el punto temporal de los 30 minutos ($1,82 \pm 0,05$ mm a $1,94 \pm 0,07$ mm, $p = \text{NS}$ según pruebas post hoc).

TABLA 21

Diámetros de lumen determinados angiográficamente en los tiempos especificados antes y después de la dilatación de balón en arterias ilíacas normales

Segmento	Línea base	A los 5 minutos	Inmediatamente después de la PTA	A los 15 minutos	A los 30 minutos
Proximal ¹	$2,18 \pm 0,7$	$2,03 \pm 0,7$	$1,81 \pm 0,08^*$	$2,00 \pm 0,08$	$2,23 \pm 0,08$
Balón ²	$1,82 \pm 0,05$	$1,77 \pm 0,03$	$1,79 \pm 0,05$	$1,70 \pm 0,04$	$1,94 \pm 0,07$
Distal ³	$1,76 \pm 0,04$	$1,68 \pm 0,04^{**}$	$1,43 \pm 0,04^*$	$1,54 \pm 0,03$	$1,69 \pm 0,06$

Todas las mediciones son en mm. Medias \pm SEM. PTA=angioplastia transluminal percutánea.

¹ $p = 0,0002$ (ANOVA comparación intra-grupo),

² $p = 0,03$ (ANOVA comparación intra-grupo),

³ $p < 0,0001$ (ANOVA comparación intra-grupo),

* $p < 0,01$ respecto a la línea de base y mediciones de diámetro a los 30 minutos (prueba de Scheffe para las comparaciones post hoc).

** $p < 0,01$ frente a mediciones inmediatamente posteriores a la PTA (prueba de Scheffe para las comparaciones post hoc). Todas las demás comparaciones post hoc resultaron no significativas con un umbral de $p < 0,01$.

Los diámetros de lumen arterial se utilizaron para calcular las áreas de lumen y a continuación las mediciones de área se utilizaron para calcular el porcentaje de vasoconstricción por comparación de los datos a los 5 minutos, inmediatamente posteriores a la angioplastia, a los 15 minutos y a los 30 minutos con las mediciones de línea base. Los datos de los segmentos proximal y distal expresados como porcentaje de vasoconstricción se muestran en la figura 1; los cambios en el nivel de vasoconstricción en el tiempo son significativos (en el segmento proximal, $p = 0,0008$; en el segmento distal, $p = 0,0001$, ANOVA). Las pruebas post hoc identificaron la vasoconstricción en el punto temporal inmediatamente posterior a la angioplastia como significativamente diferente de la presente en el punto temporal de los 30 minutos ($p < 0,001$ en ambos segmentos). En el segmento distal, la vasoconstricción inmediatamente posterior a la angioplastia también fue significativamente menor que la observada a los 5 minutos ($p < 0,01$); ninguna otra diferencia en las comparaciones restringidas a cada punto temporal era significativa según las pruebas post hoc.

Los cambios lumbales en las arterias de control pueden resumirse de la manera siguiente: 1) se produjo vasoconstricción con pérdida de aproximadamente el 30% del área luminal de línea base en los segmentos de

arteria proximales y distales al segmento dilatado con balón inmediatamente después de la dilatación del balón. También se observó una tendencia a niveles menores de vasoconstricción en los segmentos proximal y distal antes de la dilatación y en el punto temporal de los 15 minutos (aproximadamente 7 minutos después de la dilatación), aunque llegado al punto de los 30 minutos (aproximadamente 22 minutos después de la dilatación), una tendencia hacia la vasodilatación había sustituido la vasoconstricción anterior; 2) en el segmento dilatado con balón, sólo se presentaron cambios menores en las dimensiones de lumen y, a pesar de la utilización de un balón con un diámetro inflado significativamente mayor que el presente en este segmento en la línea de base, no se observó un incremento significativo en el diámetro de lumen del segmento dilatado. Estos resultados conducen a la conclusión de que cualquier efecto del tratamiento putativo con histamina/serotonina sólo sería detectable en los segmentos proximal y distal en los puntos temporales en los que hubiese vasoconstricción.

La solución de bloqueo de los receptores de histamina/serotonina se infundió en 16 arterias (8 animales); se disponía de datos angiográficos en todos los puntos temporales en las 12 arterias. Se disponía de mediciones de tasa cardíaca y de presión sanguínea sistólica en un subgrupo de los animales (tabla 22). No se observaron diferencias de tasa cardíaca o de presión sanguínea sistólica al comparar los dos grupos de animales dentro de puntos temporales específicos. Los animales tratados con histamina/serotonina mostraron una tendencia hacia una reducción de la presión sanguínea sistólica entre la línea de base y los 30 minutos (-14±5 mmHg, p=0,04) y una tasa cardíaca menor (-26±10, p=0,05). Dentro de los animales de control, no hubo cambios de tasa cardíaca o de presión sanguínea sistólica durante toda la duración del experimento.

TABLA 22

Mediciones de presión sanguínea sistólica y de tasa cardíaca en los animales de control y tratados con histamina/serotonina

Grupo	Línea de base (N)	A los 5 minutos (N)	A los 15 minutos (N)	A los 30 minutos (N)
Presión sanguínea sistólica				
Control	83±4 (8)	84±4 (8)	82±6 (8)	80±4 (8)
Histamina/serotonina	93±5 (6)	87±9 (4)	82±9 (6)	80±8 (6)*
Tasa cardíaca				
Control	221±18 (5)	234±18 (4)	217±23 (5)	227±22 (5)
Histamina/serotonina	232±8 (5)	232±8 (5)	209±14 (5)	206±12 (5)**

Presión sanguínea sistólica en mm Hg y tasa cardíaca en pulsaciones por minuto. Media±SEM.

* p=0,04 para una reducción en la presión sanguínea sistólica entre la línea de base y los 30 minutos, y

** p=0,05 para una reducción en la tasa cardíaca entre la línea de base y los 30 minutos en los animales tratados con histamina/serotonina.

Los segmentos proximal y distal de las arterias tratadas con histamina/serotonina se compararon con arterias de control utilizando la medición de porcentaje de vasoconstricción. La figura 2A muestra los efectos de la fusión de histamina/serotonina sobre la vasoconstricción del segmento proximal en comparación con la vasoconstricción presente en las arterias de control. Al comparar los resultados en los dos grupos de tratamiento en la línea de base, inmediatamente posterior a la angioplastia y a los 15 minutos, la infusión de histamina/serotonina resultó en significativamente menos vasoconstricción en comparación con la infusión de control con solución salina (p=0,003, ANOVA de dos direcciones). La comparación de los dos grupos de tratamiento en el segmento distal se ilustra en la figura 2B. A pesar de las diferencias observadas en las mediciones de diámetro medio en el segmento distal, los vasos tratados con solución mostraron menos vasoconstricción que los vasos de control tratados con solución salina en la línea base, inmediatamente después de la angioplastia y a los 15 minutos, este patrón no era estadísticamente significativo (p=0,32, ANOVA de 2 direcciones). La falta de significación estadística puede atribuirse a válvulas de vasoconstricción más pequeñas de lo esperado en los vasos de control.

H. EJEMPLO VIII

Inhibición con amitriptilina de extravasación plasmática articular de rodilla inducida con 5-hidroxitriptanina. Comparación de las rutas de administración intraarticular e intravenosa.

El siguiente estudio se llevó a cabo con el fin de comparar dos rutas de administración del antagonista de receptor 5-HT₂, amitriptilina: 1) infusión intraarticular continua; frente a 2) inyección intravenosa, en un modelo de inflamación sinovial de rodilla en la rata. Se determinó la capacidad de inhibir la extravasación plasmática articular inducida por 5-HT comparando tanto eficacia como dosis total de fármaco amitriptilina administrada a través de cada ruta.

1. Animales

Para estos estudios se obtuvo la autorización del Institutional Animal Care Committee de la Universidad de California, San Francisco. Se utilizaron ratas Sprague-Dawley macho (Bantin y Kingman, Fremont, CA) que pesaban

300 a 450 g. Las ratas se albergaron bajo condiciones iluminadas controladas (luz entre las 6:00 y las 18:00) con alimento y agua disponibles *ad libitum*.

2. Extravasación plasmática

Las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (65 mg/kg) y después se les inyectó en la vena de la cola pigmento azul de Evans (50 mg/kg en un volumen de 2,5 ml/kg), que se utiliza como marcador para la extravasación de proteínas plasmáticas. La cápsula articular de la rodilla se expuso retirando la piel suprayacente y se insertó una aguja de calibre 30 en la articulación y se utilizó para la infusión de líquido. La tasa de infusión (250 µl/min) se controló mediante una bomba-jeringa Sage Instruments (Modelo 341B, Orion Research Inc., Boston, MA). También se insertó una aguja de calibre 25 en el espacio articular y se extrajo el líquido perfusado a 250 µl/min, controlado mediante una bomba jeringa Sage Instruments (Modelo 351).

Las ratas se asignaron aleatoriamente a tres grupos: 1) aquéllas que recibían únicamente 5-HT intraarticular (IA) (1 µM), 2) aquéllas que recibían amitriptilina intravenosa (IV) (dosis comprendidas entre 0,01 y 1,0 mg/kg) seguido de 5-HT IA (1 mM) y 3) aquéllas que recibían amitriptilina intraarticular (IA) (concentraciones comprendidas entre 1 y 100 nM) seguido de 5-HT IA (1 µM) más amitriptilina IA. En todos los grupos, se obtuvieron niveles de línea base de extravasación plasmática al inicio de cada experimento perfundiendo solución salina al 0,9% intraarticularmente y recogiendo tres muestras de perfusado a lo largo de un periodo de 15 minutos (una cada 5 minutos). A continuación se administró al primer grupo 5-HT IA durante un total de 25 minutos. Se recogieron muestras de perfusado cada 5 minutos durante un total de 25 minutos. Después, se determinó en las muestras la concentración de azul de Evans mediante medición espectrofotométrica de la absorbancia a 620 nm, la cual está relacionada linealmente con su concentración (Carr y Wilhelm, 1964). El grupo de la amitriptilina IV recibió el fármaco durante la inyección en la vena de cola del pigmento azul de Evans. Las articulaciones de rodilla se perfundieron a continuación cada 15 minutos con solución salina (línea de base), seguido de la perfusión a los 25 minutos con 5-HT (1 µM). Las muestras de perfusado se recogieron cada 5 minutos durante un total de 25 minutos. A continuación las muestras se analizaron mediante espectrofotometría. En el grupo de la amitriptilina IA, se perfundió intraarticularmente amitriptilina durante 10 minutos tras la perfusión de los 15 minutos con solución salina, después se perfundió amitriptilina en combinación con 5-HT durante 25 minutos adicionales. Las muestras de perfusado se recogieron cada 5 minutos y se analizaron tal como se ha indicado anteriormente.

Algunas rodillas de rata fueron excluidas del estudio debido al daño físico de la articulación de rodilla o al desacoplamiento de la entrada o salida (detectable por la presencia de sangre en el perfusado y niveles elevados de extravasación plasmática en la línea de base o inflamación de la articulación de la rodilla debido a una colocación inapropiada de la aguja).

a. Extravasación plasmática inducida por 5-HT

Se midió la extravasación plasmática de línea base en todas las articulaciones de rodilla estudiadas (total, n=22). Los niveles basales de extravasación plasmática eran bajos, con una media de unidades de absorbancia de $0,022 \pm 0,003$ a 620 nm (media \pm error estándar respecto a la media). Este nivel basal de extravasación se muestra en las figuras 3 y 4 como una línea interrumpida.

El 5-HT (1 µM) perfundido en la articulación de rodilla de rata produjo un incremento tiempo-dependiente en la extravasación plasmática por encima de los niveles basales. Durante la perfusión durante 25 minutos de 5-HT intraarticular, los niveles máximos de extravasación plasmática se alcanzaron a los 15 minutos y se prolongaron hasta terminar la perfusión a los 25 minutos (datos no mostrados). Por lo tanto, los niveles de extravasación plasmática inducida por 5-HT que se dan a conocer son la media de los obtenidos en los puntos temporales de 15, 20 y 25 minutos durante cada experimento. La extravasación plasmática inducida por 5-HT presentó una media de $0,192 \pm 0,011$, una estimulación de aproximadamente 8 veces por encima de la línea de base. Estos datos se muestran en los gráficos de las figuras 3 y 4, correspondientes con la dosis "0" de amitriptilina IV y la concentración "0" de la amitriptilina IA, respectivamente.

b. Efecto de la amitriptilina intravenosa sobre la extravasación plasmática inducida por 5-HT

La amitriptilina administrada a través de la inyección en la vena de cola produjo una reducción dosis-dependiente en la extravasación plasmática inducida por 5-HT, tal como se muestra en la figura 3. La IC_{50} para la inhibición por amitriptilina IV de la extravasación plasmática inducida por 5-HT era de aproximadamente 0,025 mg/kg. La extravasación plasmática inducida por 5-HT se vio completamente inhibida por una dosis de amitriptilina IV de 1 mg/kg, con una media de extravasación plasmática de $0,034 \pm 0,010$.

c. Efecto de la amitriptilina intraarticular sobre la extravasación plasmática inducida por 5-HT

La amitriptilina administrada sola en concentraciones crecientes intraarticularmente no afectó los niveles de extravasación plasmática respecto a la línea de base, con una media de extravasación plasmática de $0,018 \pm 0,002$ (datos no mostrados). La amitriptilina coperfundida en concentraciones crecientes con 5-HT produjo una reducción

dependiente de la concentración en la extravasación plasmática inducida por 5-HT, tal como se muestra en la figura 4. La extravasación plasmática inducida por 5-HT en presencia de amitriptilina IA 3 nM no fue significativamente diferente de la producida por 5-HT sola, sin embargo, la amitriptilina 30 nM coperfundida con 5-HT provocó una inhibición superior al 50%, mientras que la amitriptilina 100 nM provocó la inhibición completa de la extravasación plasmática inducida por 5-HT. La IC_{50} para la inhibición por amitriptilina IA de la extravasación plasmática inducida por 5-HT era de aproximadamente 20 nM.

El resultado principal del presente estudio es que la 5-HT (1 μ M) perfundida intraarticularmente en la articulación de rodilla de rata provoca una estimulación de la extravasación plasmática que es aproximadamente 8 veces los niveles basales y que la administración tanto intravenosa como intraarticular del antagonista de los receptores de 5-HT₂, amitriptilina, puede inhibir la extravasación plasmática inducida por 5-HT. La dosis total de amitriptilina administrada, sin embargo, difiere drásticamente entre los dos procedimientos de administración de fármaco. La IC_{50} para la inhibición por amitriptilina IV de la extravasación plasmática inducida por 5-HT es de 0,025 mg/kg, o $7,5 \times 10^{-3}$ mg en una rata adulta de 300 g. La IC_{50} para la inhibición por amitriptilina IA de la extravasación plasmática inducida por 5-HT es de aproximadamente 20 nM. Debido a que se administró 1 ml de esta solución cada cinco minutos durante un total de 35 minutos durante el experimento, la dosis total perfundida en la rodilla fue de 7 ml, para una dosis total de $4,4 \times 10^{-5}$ mg perfundidos en la rodilla. Esta dosis de amitriptilina IA es aproximadamente 200 veces menor que la dosis de amitriptilina IV. Además, es probable que sólo una pequeña fracción del fármaco perfundido IA sea absorbido sistémicamente, resultando en una diferencia incluso mayor en la dosis administrada total de fármaco.

Debido a que la 5-HT desempeña un papel importante en el dolor e inflamación quirúrgicos, tal como se ha comentado anteriormente, los antagonistas de 5-HT, tales como la amitriptilina, pueden resultar beneficiosos si se utilizan durante el periodo perioperatorio. Un estudio reciente intentó determinar los efectos de la amitriptilina oral sobre el dolor ortopédico postoperatorio (Kerrick *et al.*, 1993). Una dosis oral de tan solo 50 mg provocó efectos secundarios no deseables sobre el SNC, tales como una "reducción de la sensación de bienestar". En dicho estudio, además, también se observó que la amitriptilina oral provocaba puntuaciones en la escala de dolor más elevadas que el placebo ($P < 0,05$) en los pacientes postoperatorios. Se desconoce si esto fue debido a lo desagradable globalmente que es la amitriptilina oral. Por el contrario, la ruta de administración intraarticular permite administrar una concentración extremadamente baja de fármaco localmente en el sitio de inflamación, resultando posiblemente en un beneficio máximo con efectos secundarios mínimos.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Composición para su utilización para la inhibición de manera perioperatoria del dolor y la inflamación en una herida durante un procedimiento artroscópico mediante la aplicación intraprocedimental de la composición localmente a la herida, y en la que la composición comprende una solución de irrigación de una pluralidad de agentes inhibidores de la inflamación/del dolor en un vehículo líquido fisiológico, siendo seleccionados la pluralidad de agentes de entre antagonista del receptor de la serotonina 2, antagonista del receptor de la serotonina 3, antagonista del receptor de la histamina 1, agonista del receptor de la serotonina que actúa sobre los receptores 1A, 1B, 1D, 1F y/o 1E, un antagonista del receptor de la bradiquinina 1, un antagonista del receptor de la bradiquinina 2, y un inhibidor de la ciclooxigenasa, resultando los agentes eficaces en conjunto para la inhibición del dolor y de la inflamación en la herida, en la que cada agente está incluido a una concentración para el suministro local que es inferior respecto a la concentración de cada agente que debería ser suministrada por vía sistémica para proporcionar el mismo efecto terapéutico en la herida.
- 15 2. Composición para su utilización según la reivindicación 1 que es una solución y en la que el medicamento está destinado a irrigar continuamente la herida con la solución durante el procedimiento.
- 20 3. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende un inhibidor de la ciclooxigenasa.
4. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende un agonista del receptor de la serotonina que actúa sobre los receptores 1A, 1B, 1D, 1F y/o 1E.
- 25 5. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende un antagonista del receptor de la serotonina 2 o un antagonista del receptor de la serotonina 3.
6. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que la composición comprende un antagonista del receptor de la histamina 1.
- 30 7. Composición para su utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que cada agente en la composición está incluido a una concentración no superior a 100.000 nanomolar, preferentemente no superior a 10.000 nanomolar.
- 35 8. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que un agente incluido en la solución es un antagonista del receptor de la histamina H₁, preferentemente en la que el agente es la amitriptilina.
9. Composición para su utilización según la reivindicación 1 o 2, en la que un agente incluido en la solución es un antagonista del receptor de la serotonina 2, preferentemente en la que el agente es la amitriptilina.

FIG. 1

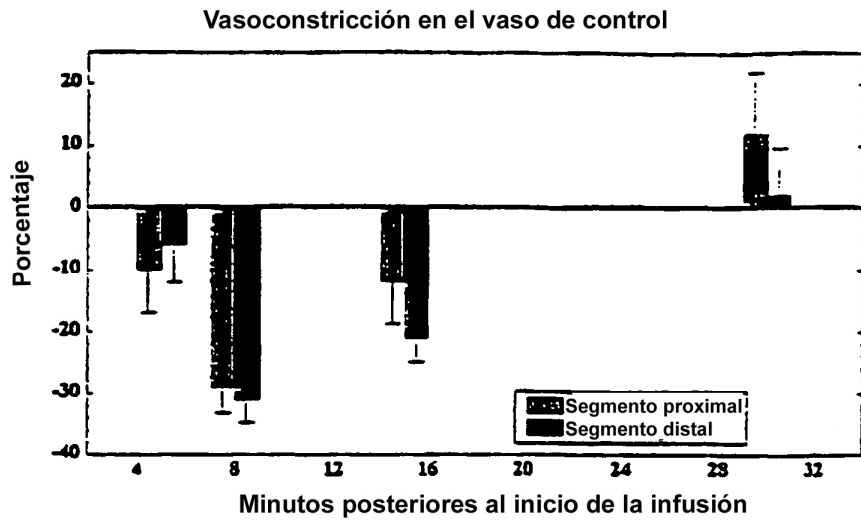


FIG. 2A

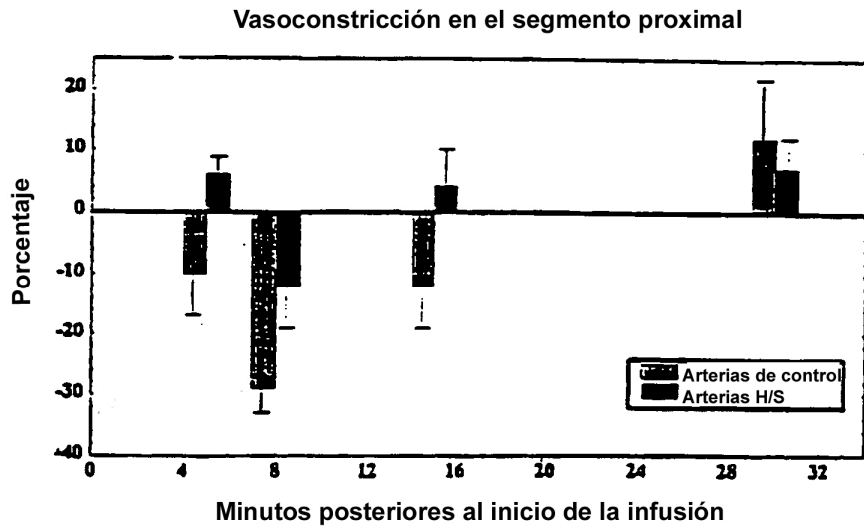


FIG.2B

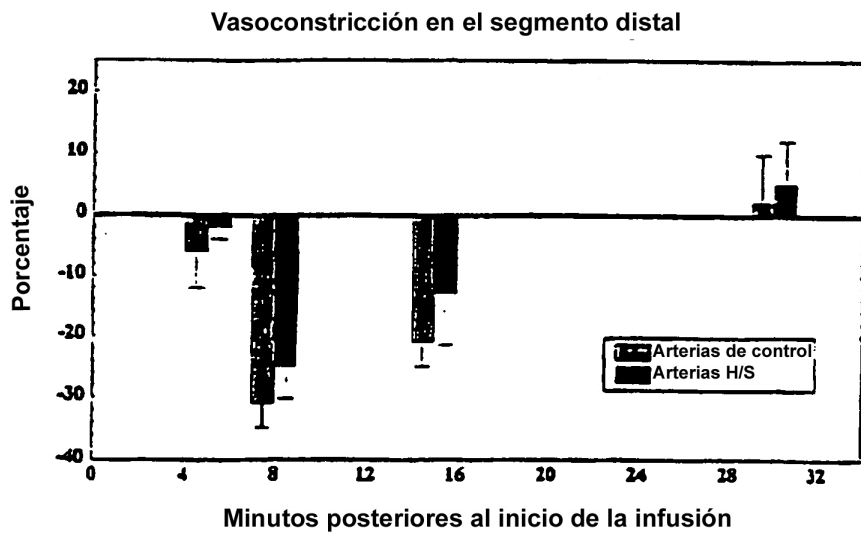


FIG. 3

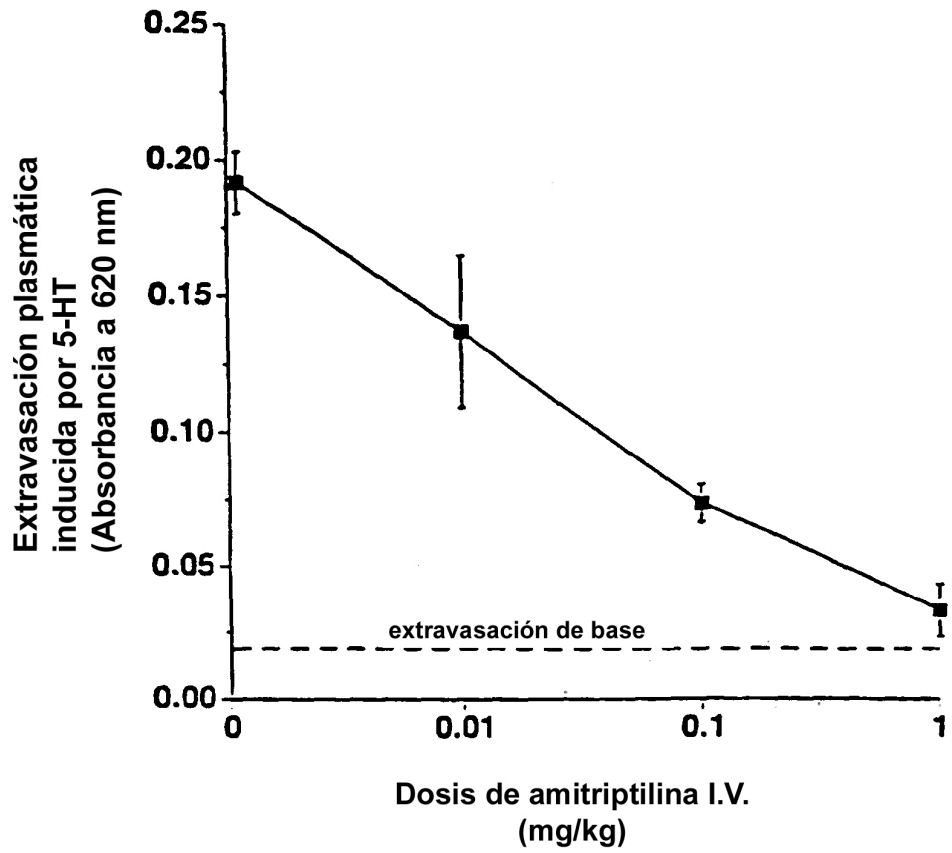


FIG. 4

