

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 434 943**

51 Int. Cl.:

A61K 38/04 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 7/00 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 25/18 (2006.01)
A61P 25/24 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.12.2005 E 05847549 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.08.2013 EP 1827476**

54 Título: **Uso de antagonista de bombesina/péptido liberador de gastrina para el tratamiento de septicemia, choque séptico, lesión pulmonar aguda o artritis reumatoide**

30 Prioridad:

17.12.2004 US 636525 P
08.12.2005 US 748178 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.12.2013

73 Titular/es:

CRISTÁLIA PRODUTOS QUÍMICOS E FARMACÉUTICOS LTDA. (100.0%)
Rodovia Itapira Lindoia, km. 14
Cidade de Itapira SP, BR

72 Inventor/es:

SCHWARTSMANN, GILBERTO;
ROESLER, RAFAEL;
DAL PIZZOL, FELIPE;
QUEVEDO, JOAO LUCIANO y
KAPCZINSKI, FLAVIO

74 Agente/Representante:

VEIGA SERRANO, Mikel

ES 2 434 943 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

5 Uso de antagonista de bombesina/péptido liberador de gastrina para el tratamiento de septicemia, choque séptico, lesión pulmonar aguda o artritis reumatoide

Sector de la técnica

10 La presente invención se refiere una estrategia terapéutica novedosa para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, en particular septicemia y lesión pulmonar aguda, así como trastorno bipolar por medio de la administración de antagonistas de bombesina/péptido liberador de gastrina.

Estado de la técnica

15 Se sabe que el sistema de receptor de bombesina/péptido liberador de gastrina (GRP), es decir bombesina/gastrina, sus receptores y los componentes de las rutas de señalización mediadas por receptor, está implicado en la regulación de varios aspectos de la función del SNC (Yamada *et al.*, *Mol. Psychiatry* 7, 113-117 (2002)), en trastornos neuropsiquiátricos, tales como esquizofrenia (Mellar *et al.*, *Peptides* 25, 585-588 (2004)) y autismo (Ishikawa-Brush *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* 6, 1241-1250 (1997)), en el desarrollo de cáncer (Schwartzmann, G., *Lung Cancer* 46,129 (2004); Szepeshazi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 10913 (1997)) y en la patogénesis de bronquitis crónica (Meloni *et al.*, *Int J. Tissue React.* 14, 195-201 (1992)) y fibrosis pulmonar (Lemaire *et al.*, *Neuropeptides* 20, 63-72 (1991)).

25 Además se sabe que el sistema bombesina/GRP tiene varios efectos sobre el sistema inmunitario. Por ejemplo, se ha notificado que GRP induce la proliferación y quimiotaxis de mastocitos *in vitro* (Genton *et al.*, *American Journal of Surgery* 186, 253-258 (2003); Subramaniam *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 168, 601-611 (2003)) y modula, como estimulante o inhibidor, la función de linfocitos, fagocitos y linfocitos citolíticos naturales (Medina *et al.*, *Mechanisms of Ageing and Development* 102, 249-261 (1998); Medina *et al.*, *Neuropeptides* 33, 173-179 (1999); De la Fuente *et al.*, *Immunology* 73, 205-211 (1991); Medina *et al.*, *Neuropeptides* 32, 549-555 (1998)). Además, GRP parece tener efectos estimulantes sobre la movilidad, ingestión y producción de superóxidos en macrófagos de ratones adultos, potenciando la liberación de IL-1 por macrófagos alveolares activados con lipopolisacáridos (LPS) (De la Fuente *et al.*, *Life Sciences* 67, 2125-2135 (2000); De la Fuente *et al.*, *Immunology* 73, 205-211 (1991); Lemaire *et al.*, *Neuropeptides* 20, 217-223 (1991)).

35 Aunque sigue teniendo que identificarse las rutas intracelulares exactas asociadas con los efectos relacionados con GRP mencionados anteriormente, se ha notificado que determinados efectos de GRP sobre leucocitos peritoneales murinos están mediados a través de la activación de proteína cinasa C (Del Rio *et al.*, *Regul. Pept.* 49, 185-193 (1994)). Además, se sabe que la bombesina, un homólogo de GRP, estimula la expresión de ciclooxigenasa 2 (COX-2) en líneas de células epiteliales intestinales. La expresión de COX-2 estimulada por bombesina requiere un aumento de $[Ca^{+2}]$, la activación de cinasa regulada por señal extracelular (ERK) 1 y 2 y p38MAPK, y el aumento de la activación y expresión de los factores de transcripción Elk-1, ATF-2, c-Fos y c-Jun (Guo Y.-S. *et al.*, *J. Biol. Chem.* 276, 22941-22947 (2001)).

45 A lo largo de los últimos años, el sistema de receptor de bombesina/GRP ha surgido como una diana farmacológica prometedora para la terapia anticancerígena (Schwartzmann, G., *Lung Cancer* 46, 129 (2004); Szepeshazi *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 94, 10913 (1997), patentes estadounidenses 5.244.883 y 5.369.094) y trastornos neuropsiquiátricos (Ishikawa-Brush *et al.*, *Hum. Mol. Genet.* 6, 1241-1250 (1997); y Mellar *et al.*, *Peptides* 25, 585-588 (2004)) y se han dedicado grandes esfuerzos al desarrollo de antagonistas de bombesina/GRP. Actualmente se conocen varias clases de antagonistas de bombesina/GRP, que pertenecen principalmente a la clase de compuestos polipeptídicos. Los ejemplos de los mismos incluyen compuestos nonapeptídicos dados a conocer en la patente estadounidense 5.244.883, compuestos nonapeptídicos dados a conocer en la patente estadounidense 5.369.094, análogos de la sustancia P (Coy *et al.*, *J. Biol. Chem.* 263, 5056 (1988)) y análogos de GRP(20-27) (Heimbrook *et al.*, *J. Biol. Chem.* 264, 11258 (1989)).

55 Sin embargo, todavía se desconoce el potencial terapéutico de antagonistas de bombesina/GRP para mejorar estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, en particular choque séptico y lesión pulmonar aguda. La aparición de inflamaciones (sistémicas) es un problema grave asociado con varios estados médicos y se supone que es la causa de muerte en muchos casos. Sin embargo, las estrategias antiinflamatorias disponibles en la actualidad sólo producen efectos clínicos moderados en pacientes con enfermedad crítica (*BLUE Journal*). Esto puede ser secundario a varios factores, incluyendo la respuesta inflamatoria heterogénea asociada con estos estados (Hotchkiss & Karl, *New Engl. J. Med.* 348, 138-150 (2003)) y el diseño engañoso de estudios preclínicos (Ritter *et al.*, *Lancet* 364, 498-499 (2004); Polderman *et al.*, *Lancet* 363, 1721-1723 (2004)).

65 El choque séptico, por ejemplo, se ha convertido en una de las causas más frecuentes de morbimortalidad en unidades de cuidados intensivos (Sands *et al.*, *JAMA* 278, 234-240 (1997)). Aunque comienza comúnmente como una infección, la patogénesis de la septicemia se caracteriza por una respuesta inflamatoria sistémica arrolladora que puede conducir a fallo multiorgánico mortal (Hotchkiss & Karl, *New Engl. J. Med.* 348, 138-150 (2003)). Los

tratamientos convencionales de la septicemia consisten en soporte de la tensión arterial, flujo sanguíneo a órganos y ventilación, junto con un énfasis en antibióticos y en erradicar la(s) fuente(s) de la infección. A pesar de avances significativos en la comprensión de la patogénesis de la septicemia y su tratamiento, la mortalidad debida a choque séptico ha mejorado poco a lo largo de las últimas décadas (Friedman *et al.*, Crit. Care Med. 26, 2078-2086 (1998)).

5 El trastorno bipolar, también conocido como enfermedad maniaco-depresiva, es un trastorno cerebral que provoca desplazamientos no habituales en el estado de ánimo, la energía y la capacidad para funcionar de una persona. De manera diferente a los altibajos normales que experimenta todo el mundo, los síntomas del trastorno bipolar son intensos. Pueden dar como resultado que se dañen las relaciones, mal rendimiento en el trabajo o en la escuela e incluso suicidio. Puede encontrarse un resumen exhaustivo sobre el trastorno bipolar y referencias adicionales en la publicación del National Institute of Mental Health (NIMH) (Instituto nacional de la salud mental) "Bipolar disorder", n.º de publicación de los NIH 02-3679, impreso en 2001, reimpresso en septiembre de 2002, que también está disponible en <http://www.nimh.nih.gov/publicat/NIMHbipolar.pdf>.

15 Más de 2 millones de adultos americanos, o aproximadamente un 1 por ciento de la población de 18 años de edad y mayores en cualquier año dado, tienen trastorno bipolar. El trastorno bipolar se desarrolla normalmente en la adolescencia tardía o la edad adulta inicial. Sin embargo, algunas personas pueden tener sus primeros síntomas durante la infancia, y algunas los desarrollan más tarde en su vida. Con frecuencia no se reconoce como una enfermedad, y las personas pueden sufrir durante años antes de que les diagnostique y se les trate apropiadamente. Como la diabetes o la cardiopatía, el trastorno bipolar es una enfermedad de larga duración que debe tratarse cuidadosamente durante toda la vida de una persona.

20 El trastorno bipolar provoca drásticos cambios del estado de ánimo, desde excesivamente "alto" y/o irritable hasta triste y desesperado, y luego de vuelta otra vez, con frecuencia con periodos de estado de ánimo normal entre medias. Hay varios cambios de energía y comportamiento junto con estos cambios en el estado de ánimo. Los periodos de altos y bajos se denominan episodios de manía y depresión.

25 Los signos y síntomas de la manía (o un episodio maniaco) incluyen "aumento de la energía, actividad e inquietud; estado de ánimo excesivamente "alto", demasiado bueno o eufórico; irritabilidad extrema; pensamientos acelerados y hablar muy rápido, saltar de una idea a otra; distracción, no poder concentrarse bien; necesitar poco sueño; creencias irrealistas en las capacidades y poderes de uno mismo; mal criterio; comprar de manera desenfrenada; un periodo duradero de comportamiento que es diferente del habitual; aumento de la libido; abuso de sustancias, particularmente cocaína, alcohol y medicamentos para dormir; comportamiento provocativo, intrusivo o agresivo; negación de que algo va mal".

30 Se proporciona un diagnóstico de episodio maniaco si se produce un estado de ánimo elevado con tres o más de los otros síntomas durante la mayor parte del día, casi cada día, durante 1 semana o más. Si el estado de ánimo es irritable, deben estar presentes cuatro síntomas adicionales.

40 Los signos y síntomas de la depresión (o un episodio depresivo) incluyen "estado de ánimo triste, ansioso o vacío duradero; sentimientos de desesperación o pesimismo; sentimientos de culpabilidad, inutilidad o impotencia; pérdida de interés o placer en actividades que antes se disfrutaban, incluyendo el sexo; disminución de la energía, un sentimiento de fatiga o de estar "decaído"; dificultad en concentrarse, recordar, tomar decisiones; inquietud o irritabilidad; dormir demasiado o no poder dormir; cambio en el apetito y/o pérdida o aumento de peso no intencionado; dolor crónico u otros síntomas corporales persistentes que no están provocados por ninguna lesión o enfermedad física; pensamientos de muerte o suicidio, o intentos de suicidio".

45 Se proporciona un diagnóstico de episodio depresivo si cinco o más de estos síntomas duran la mayor parte del día, casi cada día, durante un periodo de 2 semanas o más.

50 Un nivel de leve a moderado de manía se denomina hipomanía. La persona que la experimenta puede percibir la hipomanía como algo bueno y puede incluso estar asociada con un buen funcionamiento y una productividad potenciada. Por tanto incluso cuando la familia y los amigos aprenden a reconocer los cambios del estado de ánimo como un posible trastorno bipolar, la persona puede negar que algo vaya mal. Sin embargo, sin un tratamiento apropiado la hipomanía puede convertirse en manía intensa en algunas personas o puede cambiar a depresión.

55 Algunas veces, los episodios intensos de manía o depresión incluyen síntomas de psicosis (o síntomas psicóticos). Los síntomas psicóticos comunes son alucinaciones (oír, ver o sentir de otro modo la presencia de cosas que no están ahí) y delirios (creencias falsas arraigadas que no se ven influidas por razonamiento lógico o se explican por los conceptos culturales habituales de una persona). Los síntomas psicóticos en el trastorno bipolar tienden a reflejar el estado de ánimo extremo en ese momento. Por ejemplo, durante la manía pueden producirse delirios de grandeza, tales como creer que uno es el presidente o tiene riquezas o poderes especiales; durante la depresión pueden aparecer delirios de culpabilidad o inutilidad, tales como creer que uno está arruinado y no tiene nada de dinero o ha cometido algún crimen terrible. A las personas con trastorno bipolar que tienen estos síntomas se les diagnostica algunas veces de manera incorrecta que tienen esquizofrenia, otra enfermedad mental grave.

Puede ser útil pensar en los diversos estados de ánimo en el trastorno bipolar como en un espectro o una gama continua. En un extremo está la depresión intensa, por encima de la cual está la depresión moderada y después el estado de ánimo bajo leve, que algunas personas llaman "bajón" cuando tiene poca duración pero se denomina "distimia" cuando es crónico. Después hay un estado de ánimo normal o equilibrado, por encima del cual llega la hipomanía (manía de leve a moderada) y después la manía intensa.

Sin embargo, en algunas personas pueden producirse síntomas de manía y depresión juntos en lo que se denomina un estado bipolar mixto. Los síntomas de un estado mixto incluyen con frecuencia agitación, problemas para dormir, cambio significativo en el apetito, psicosis y pensamientos suicidas. Una persona puede tener un estado de ánimo muy triste, desesperado mientras que al mismo tiempo se siente con una energía extrema.

El trastorno bipolar puede parecer ser un problema distinto de una enfermedad mental, por ejemplo, abuso de alcohol o sustancias, mal rendimiento en la escuela o en el trabajo, o relaciones interpersonales tensas. Tales problemas pueden de hecho ser signos de un trastorno subyacente del estado de ánimo.

La prevalencia, el alto riesgo de suicidio y los costes sociales y económicos revelan que el trastorno bipolar es un riesgo de salud pública principal.

El documento US 2004/127470 da a conocer un método para la prevención o el tratamiento de la neoplasia y trastornos relacionados con neoplasia mediante una terapia de combinación que comprende al menos un inhibidor de la ciclooxigenasa 2 (Cox-2) y un antagonista de receptor de EGF. Este documento da a conocer el péptido RC-3095, pero como antagonista de EGFR para inhibir el crecimiento tumoral, y no como compuesto antiinflamatorio.

El documento US 6.143.519 da a conocer un polipéptido receptor de endotelina-bombesina humano, polinucleótidos (ADN o ARN) que codifican para tal polipéptido y también métodos para usar tal polipéptido para identificar agonistas y antagonistas de tal polipéptido.

El documento US 5.620.955 describe antagonistas de bombesina que contienen modificaciones estructurales, incluyendo análogos lineales o cíclicos de bombesina, que potencian la estabilidad y especificidad para su uso *in vivo*.

Los documentos US 6.194.437 y US 2004/116440 dan a conocer compuestos químicos clasificados como antagonistas de bombesina útiles para tratar o prevenir una variedad de trastornos incluyendo depresión, psicosis, trastornos afectivos estacionales, cáncer, trastornos de la alimentación, trastornos gastrointestinales incluyendo colitis, enfermedad de Crohn y enfermedad inflamatoria del intestino, trastornos del sueño y deterioro de la memoria.

El documento WO 9209626 da a conocer varios nonapéptidos como potentes antagonistas de bombesina, y entre ellos el péptido RC-3095, útil para el tratamiento de hipergastrinemia, por ejemplo, anemia perniciosa, gastritis atrófica crónica, síndrome de Zollinger-Ellison y vitíligo, asociada con hiperplasia difusa de células similares a enterocromafina gástrica, y con un aumento del riesgo de desarrollar tumores carcinoides gástricos multifocales.

Por tanto, existe una necesidad de medicamentos alternativos para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, tales como septicemia y lesión pulmonar aguda, así como trastorno bipolar.

Objeto de la invención

La presente invención se refiere al antagonista de péptido RC-3095 tal como se define en la reivindicación 1 para su uso para el tratamiento de septicemia, lesión pulmonar aguda, choque séptico y artritis reumatoide.

La presente invención también describe un antagonista de bombesina/péptido liberador de gastrina (GRP) adecuado para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario así como trastornos cerebrales, en particular trastorno bipolar. El antagonista de bombesina/GRP descrito en la invención es particularmente útil para el tratamiento de septicemia y lesión pulmonar aguda y las diferentes formas y/o subformas del trastorno bipolar, tales como manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y/o trastorno bipolar de ciclo rápido.

La presente invención se basa en el hallazgo inesperado de que, *in vivo*, los tratamientos con antagonistas de bombesina/GRP atenúan los niveles de TNF- α e IL-1 β en suero y mejoran la supervivencia en estados inflamatorios, en particular en septicemia "establecida", incluso cuando el tratamiento se inicia tras la aparición de la enfermedad. Además, los antagonistas de bombesina/GRP según la presente invención disminuyen el daño pulmonar inducido por la instilación intratraqueal de lipopolisacáridos (LPS) en un modelo establecido de lesión pulmonar aguda (ALI). Por tanto, el antagonista de bombesina/GRP de la presente invención proporciona una estrategia terapéutica

alternativa para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, en particular septicemia y lesión pulmonar aguda.

5 La presente invención se basa además en el hallazgo inesperado de que, *in vivo*, los tratamientos con antagonistas de bombesina/GRP previenen la hiperactividad inducida por d-anfetamina en un modelo establecido de manía aguda/trastorno bipolar. Por tanto, el antagonista de bombesina/GRP descrito en la presente invención proporciona una estrategia terapéutica alternativa para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas del trastorno bipolar, tales como manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y/o trastorno bipolar de ciclo rápido.

15 Según la invención los antagonistas de bombesina/GRP usados pertenecen a la clase de compuestos polipeptídicos y son preferiblemente nonapeptídicos tal como los dados a conocer en las patentes estadounidenses n.ºs 5.244.883 y 5.369.094. El antagonista de la invención es H-D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Leu-NH₂ (a continuación denominado RC-3095), o también se describe 3-fenil-propionil-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Thz-NH₂ (a continuación denominado RC-3940-II) en el presente documento.

20 La invención describe dos o más antagonistas de bombesina/GRP diferentes que se usan en la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario.

25 La invención describe dos o más antagonistas de bombesina/GRP diferentes que se usan en la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar.

30 En una realización adicional preferida el antagonista de bombesina/GRP de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administran a un paciente en una cantidad diaria de 0,01 a 10 mg por kg de peso corporal, en la que la vía de administración preferida es por vía subcutánea.

35 En una realización adicional el antagonista de bombesina/GRP de la invención es adecuado para su uso en una combinación con otros productos farmacológicos para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario.

40 Aún en una realización adicional el antagonista de bombesina/GRP de la invención es adecuado para su uso en una combinación con otros productos farmacológicos para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar.

45 La descripción puede entenderse más completamente mediante referencia a la siguiente descripción detallada de la invención, el ejemplo y las figuras adjuntas descritas a continuación:

Descripción de las figuras

45 La figura 1 muestra el efecto del antagonista de receptor del péptido liberador de gastrina (GRP), RC-3095, sobre la supervivencia en la septicemia establecida. Se sometieron ratas Wistar macho adultas a ligadura del ciego y perforación (ligadura del ciego y punción, CLP) y se definieron dos grupos en un diseño aleatorizado doble ciego: 1) soporte básico (ceftriaxona 30,0 mg/kg cada 6 h más clindamicina 25,0 mg/kg cada 6 h durante tres días, más reposición salina 30 ml/kg cada 12 h en el primer día); 2) soporte básico más tratamiento con RC-3095 (5 mg/kg una vez al día durante dos días). Todos los tratamientos comenzaron 6 h después del procedimiento quirúrgico. Se registró la supervivencia en un periodo de 10 días. Se muestran los datos como porcentaje de animales que sobreviven (n=32 en el grupo 1 y n=40 en el grupo 2; *p<0,01 curva de Kaplan-Meier; análisis de regresión de Cox).

50 La figura 2 muestra el contenido en especies reactivas al ácido tiobarbitúrico en órganos principales asociados con respuesta séptica. Se sometieron ratas a operación simulada o se sometieron a ligadura del ciego y punción (CLP). Se asignaron los animales sometidos a CLP a recibir "soporte básico", RC-3095 con "soporte básico" o sólo solución salina tal como se describe en el ejemplo. 24 horas tras la CLP, se extirparon el corazón, íleo, hígado, pulmón y riñón para la determinación del contenido en especies reactivas al ácido tiobarbitúrico tal como se describe en el ejemplo. Los valores se expresan como medias ± D.E. (n=6 cada grupo).

60 * diferente de operación simulada, p<0,05

** diferente de CLP, p<0,05

65 La figura 3 muestra el contenido en carbonilos de proteína en órganos principales asociado con la respuesta séptica. Se sometieron ratas a operación simulada o se sometieron a ligadura del ciego y punción (CLP). Se asignaron los animales sometidos a CLP a recibir "soporte básico", RC-3095 con "soporte básico" o sólo solución salina tal como

se describe en el ejemplo. 24 horas tras la CLP se extirparon el corazón, íleo, hígado, pulmón y riñón para la determinación del contenido en carbonilos de proteína tal como se describe en el ejemplo. Los valores se expresan como medias \pm D.E. (n=6 cada grupo).

5 * diferente de operación simulada, $p < 0,05$

** diferente de CLP, $p < 0,05$

10 La figura 4 muestra los hallazgos histopatológicos 24 h después de la ligadura del ciego y punción (CLP). Se sometieron ratas a CLP y se asignaron a recibir "soporte básico" o RC-3095 con "soporte básico" tal como se describe en el ejemplo. 24 horas tras la CLP se extirparon el corazón (no mostrado), íleo (A y B), hígado (no mostrado), pulmón (C y D) y riñón (E y F) para análisis histopatológicos tal como se describe en el ejemplo. Ilustraciones representativas (n= 3). A, C y E, ratas sometidas a CLP que reciben "soporte básico". B, D y F, ratas sometidas a CLP que reciben "soporte básico" más RC-3095 (hematoxilina y eosina X 400).

15 La figura 5 muestra el contenido en carbonilos de proteína y en especies reactivas al ácido tiobarbitúrico en el pulmón tras lesión pulmonar aguda inducida por lipopolisacáridos (LPS). Se expusieron las ratas a LPS o a solución salina y se trataron con RC-3095 tal como se describe en el ejemplo. 24 horas tras la inducción de lesión pulmonar aguda se extirpó el pulmón para la determinación del contenido en carbonilos de proteína y en especies reactivas al ácido tiobarbitúrico tal como se describe en el ejemplo. Los valores se expresan como medias \pm D.E. (n=6 cada grupo).

20 * diferente de solución salina, $p < 0,05$

25 ** diferente de LPS, $p < 0,05$

La figura 6 muestra la prevención de hiperactividad inducida por anfetamina (AMPH) en ratas mediante RC-3095. Los datos son el número medio \pm EEM de cruces y veces que se ponen a dos patas durante una exploración de un campo abierto. Se administró a los animales una inyección i.p. de 10 ml/kg de solución salina (SAL, NaCl al 0,9%) o RC-3095 (0,1, 1,0 ó 10,0 mg/kg) seguido por una inyección i.p. de SAL o anfetamina (AMPH, 2 mg/kg). * $p < 0,05$, diferencia significativa del grupo control tratado con dos inyecciones de SAL.

30 A lo largo de los dibujos, los elementos iguales o similares se designan con el mismo número de referencia para facilitar la comprensión de la invención.

35 Descripción detallada de la invención

La presente invención describe el uso de un antagonista de bombesina/péptido liberador de gastrina en la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, preferiblemente septicemia y lesión pulmonar aguda.

La presente invención describe además el uso de un antagonista de bombesina/péptido liberador de gastrina en la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar.

45 Según la presente invención, debe entenderse que el término "estado inflamatorio" o "estado inflamatorio mediado por el sistema inmunitario", respectivamente, cuando se usa en el presente documento, significa cualquier estado patológico que implica procesos inflamatorios, es decir procesos que implican células del sistema inmunitario, tales como linfocitos T y B, macrófagos, mastocitos, linfocitos citolíticos naturales, etc. con o sin la producción concomitante de interleucinas y/o citocinas. Por tanto, dentro del contexto de la presente invención, debe entenderse que los estados médicos "septicemia" y "lesión pulmonar aguda", pero también "choque séptico", "artritis reumatoide", "colitis ulcerosa", "enfermedad de Crohn", "infiltración inflamatoria oncológica", "artritis psoriásica" y otras enfermedades se encuentran dentro de la definición de "estado inflamatorio" o "estado inflamatorio mediado por el sistema inmunitario" ya que todas implican reacciones inflamatorias. En el caso de septicemia, por ejemplo, la patogénesis se caracteriza por una respuesta inflamatoria sistémica arrolladora que puede conducir a fallo multiorgánico mortal.

60 Según la presente invención, debe entenderse además que el término "trastorno bipolar" o "diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar", respectivamente, cuando se usa en el presente documento, comprende cualquier estado o condición que se sabe que es parte de, está implicado en, muestra síntomas de, etc. trastorno bipolar y sus diversas formas y/o subformas. Por tanto, dentro del contexto de la presente invención, debe entenderse que los estados médicos "manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar y/o trastorno bipolar de ciclo rápido" y otros estados o condiciones se encuentran dentro de la definición de "trastorno bipolar" o "diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar" ya que todos están implicados en, o son formas específicas de, trastorno bipolar.

Además, la presente invención proporciona que el término “un tratamiento de una condición, estado, enfermedad o trastorno”, cuando se usa en el presente documento, también cubre la terapia real así como la terapia de mantenimiento y la profilaxis frente a la recaída en seres humanos así como en mamíferos.

La presente invención describe los compuestos polipeptídicos dados a conocer en la patente estadounidense 5.244.883, los documentos CA 2.097.192 o WO 92/09626 que tienen propiedades antagonistas frente a bombesina o péptidos similares a bombesina, tales como GRP, neuromedina C y similares, que pueden usarse como antagonista de bombesina/GRP. Estos antagonistas de bombesina/GRP se representan por la siguiente fórmula general (I):



en la que

Q es NH₂ o OQ¹, en el que Q¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, fenilo o fenil-alquilo C₇₋₁₀;

X es hidrógeno, un enlace sencillo que une el grupo alfa-amino de A¹ con el grupo carboxilo de cadena lateral, cuando está presente, de A², o un grupo de fórmula R¹CO-, en el que R¹ se selecciona de los grupos que consisten en (a) hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, fenilo o fenil-alquilo C₇₋₁₀; (b) R²(R³)N-, en el que R² es hidrógeno, alquilo C₁₋₁₀, fenilo o fenil-alquilo C₇₋₁₀, R³ es hidrógeno o alquilo C₁₋₁₀; y (c) R⁴-O-, en el que R⁴ es alquilo C₁₋₁₀, fenilo o fenil-alquilo C₇₋₁₀; A¹ es D-, L- o DL-pGlu, Nal, Phe, Thi, Tyr, Tpi, Hca, Hpp, Mpp, Trp o Trp sustituido en el anillo de benceno con uno o más miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, NO₂, NH₂, OH, alquilo C₁₋₃ y alcoxilo C₁₋₃ en el que halógeno es flúor, cloro y bromo;

A² es Asn, Dpa, Gln, His, MeHis, His(Bz), His(Z) o un grupo de fórmula Dpa(X), Asp(Y), Glu[-] y Glu(Y), en el que

X es como anteriormente,

Y es -OR⁵ o -N(R⁶)R⁷ en el que

R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁₋₃ o fenilo;

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₃;

R⁷ es hidrógeno, alquilo C₁₋₃ o -NHCONH₂, y

[-] es un enlace sencillo que une el grupo carboxilo lateral, cuando está presente, de A² con el grupo alfa-amino de A¹ en el que X es un enlace sencillo;

A³ es Nal, Pal, Tpi, Trp, MeTrp, Trp(For) o Trp sustituido en el anillo de benceno con uno o más miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, NO₂, NH₂, OH, alquilo C₁₋₃ y alcoxilo C₁₋₃ en el que halógeno es flúor, cloro y bromo;

A⁴ es Ala, MeAla o Gln;

A⁵ es Val o MeVal;

A⁶ es Gly, Phe o D-Ala;

A⁷ es His, MeHis, His(Bz), His(Z), Lys(Z) o Pal;

A⁸ es un isómero reducido de Leu o Phe;

A⁹ es Leu, Phe, Tpi, Trp o Trp sustituido en el anillo de benceno con uno o más miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, NO₂, NH₂, OH, alquilo C₁₋₃ y alcoxilo C₁₋₃ en el que halógeno es flúor, cloro y bromo;

siempre que cuando A⁹ es Leu o Phe, A¹ sea distinto de D-Nal o DL-Phe y cuando A¹ es D-Nal o DL-Phe, A⁹ sea distinto de Leu o Phe; y

las sales de los mismos con ácidos farmacéuticamente aceptables.

Entre los compuestos anteriores de fórmula (I) el compuesto H-D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Leu-NH₂ (RC-3095) es el usado más preferiblemente dentro del contexto de la presente invención.

La presente invención también describe compuestos polipeptídicos dados a conocer en la patente estadounidense 5.369.094 que pueden usarse como antagonistas de bombesina/GRP. Estos antagonistas de bombesina/GRP están representados por la siguiente fórmula general (II):



en la que

10 Q es NH_2 o $-OQ^1$ en el que Q^1 es hidrógeno, alquilo C_{1-10} , fenilo o fenil-alquilo C_{1-10} ;

15 X es hidrógeno o un enlace sencillo que une el grupo alfa-amino de A^1 con el resto gamma-carboxilo en el resto 3-propionilo de A^2 cuando A^2 es $Glu[-]$, o un grupo de fórmula R^1CO- , en el que R^1 se selecciona de los grupos que consisten en (a) hidrógeno, alquilo C_{1-10} , fenilo, fenil-alquilo C_{1-10} , p-HI-fenilo, p-HI-fenil-alquilo C_{1-10} , naftilo, naftil-alquilo C_{1-10} , indolilo, indolil-alquilo C_{1-10} , piridilo, piridil-alquilo C_{1-10} , tienilo, tienil-alquilo C_{1-10} , ciclohexilo o ciclohexil-alquilo C_{1-10} , en los que HI es F, Cl, Br, OH, CH_3 u OCH_3 ; (b) $R^2(R^3)N-$, en el que R^2 es hidrógeno, alquilo C_{1-10} , fenilo o fenil-alquilo C_{1-10} , R^3 es hidrógeno o alquilo C_{1-10} ; (c) R^4-O- , en el que R^4 es alquilo C_{1-10} , fenilo o fenil-alquilo C_{1-10} ;

20 A^1 es residuo de D o L-aminoácido seleccionado del grupo que consiste en Phe, p-HI-Phe, pGlu, Nal, Pal, Tpi, Trp o Trp sustituido en el anillo de benceno con uno o más miembros seleccionados del grupo que consiste en halógeno, NH_2 , o alquilo C_{1-3} ; o A^1 es un enlace peptídico que une el resto acilo de R^1CO- con el resto alfa-amino de A^2 ; siempre que $X = R^1CO-$;

25 A^2 es Gln, $Glu[-]$, $Glu(Y)$ o His, en el que $[-]$ es un enlace sencillo, cuando X es un enlace sencillo y A^2 es $Glu[-]$, dicho $[-]$ que une el resto gamma-carboxilo en el resto 3-propionilo de dicho A^2 con el grupo alfa-amino de A^1 , Y es

(a) $-OR^5$, en el que R^5 es hidrógeno, alquilo C_{1-10} o fenilo; o

30 (b) $-N(R^6)R^7$, en el que R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-3} , R^7 es hidrógeno, alquilo C_{1-3} o $-NHCONH_2$, y Leu-psi- es una forma reducida de Leu en la que está el resto $C=O$ en lugar de $-CH_2-$ de manera que el enlace de este resto $-CH_2-$ con el grupo alfa-amino del residuo A^9 adyacente es un enlace pseudopeptídico;

A^9 es Tac, MTac o DMTac;

35 y las sales de los mismos con ácidos farmacéuticamente aceptables.

Entre los compuestos anteriores de fórmula (II) está el compuesto 3-fenil-propionil-Gln-Trp-Ala-Val-Gly His-Leu-psi-Thz- NH_2 (RC-3940-II).

40 Los compuestos según la fórmula (I) o (II) pueden estar presentes en forma de ácidos o sales farmacéuticamente aceptables. Los ejemplos de los mismos incluyen sales de adición de ácido seleccionadas de clorhidratos, sulfatos, maleatos, tartratos y similares, preferiblemente acetatos, embonatos y trifluoroacetatos.

45 También se describen en el presente documento uno o más antagonistas de bombesina/GRP tal como se definieron anteriormente, particularmente RC-3095, usados para preparar una composición farmacéutica para la prevención de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar, tales como manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y/o trastorno bipolar de ciclo rápido, actuando los antagonistas de bombesina/GRP, y en particular RC-3095, como estabilizante del estado de ánimo, en particular agente antimaniaco, que también puede prevenir nuevos episodios de trastorno bipolar, tales como manía y/o depresión y/o sus diferentes subformas.

55 También se describe en el presente documento que puede usarse una mezcla de dos o más antagonistas de bombesina/GRP diferentes tal como se definió anteriormente para preparar una composición farmacéutica para combatir estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario y/o trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y/o en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar. Por ejemplo, en el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario y/o el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y/o en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar, el antagonista de bombesina/GRP aplicado puede ser RC-3095 o RC-3940-II con o sin uno o más de otros antagonistas de bombesina/GRP pudiendo aplicarse también dichos antagonistas como kit farmacéutico. La composición farmacéutica de la invención también puede contener principios activos/medicamentos adicionales para la misma o para otras enfermedades dependiendo de los estados inflamatorios y/o trastornos cerebrales que van a tratarse.

65 El antagonista de bombesina/GRP de la invención es adecuado para su uso en una combinación con otros productos farmacológicos para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema

inmunitario. Tales productos farmacológicos se aplican antes y/o durante y/o después del tratamiento con el antagonista de bombesina/GRP de la invención. Los productos farmacológicos también pueden aplicarse junto con el antagonista de bombesina/GRP como kit farmacéutico.

5 Tales otros productos farmacológicos pueden ser:

- Fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Pueden seleccionarse de, pero no se limitan a, aspirina, indometacina, ibuprofeno e inhibidores de COX-2 tales como celecoxib y valdecoxib.

10 - Fármacos analgésicos. Pueden seleccionarse de, pero no se limitan a, paracetamol, propoxifeno, mepeidina, morfina.

- Glucocorticoides o prednisona.

15 - Fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARME). Pueden seleccionarse de, pero no se limitan a, azatioprina, penicilamina, cloroquina, hidroxicloroquina, sulfasalazina, metotrexato, oro inyectable y oral.

- Modificadores de la respuesta biológica. Pueden seleccionarse de, pero no se limitan a, anakinra, adalimumab, etanercept, infliximab.

20 El antagonista de bombesina/GRP de la invención es adecuado además para su uso en una combinación con otros productos farmacológicos para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y/o en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar. Tales productos farmacológicos se aplican antes y/o durante y/o después del tratamiento con el antagonista de bombesina/GRP de la invención. Los productos farmacológicos también pueden aplicarse junto con los antagonistas de bombesina/GRP como kit farmacéutico.

30 Con respecto a esto, tales otros productos farmacológicos pueden ser por ejemplo "estabilizadores del estado de ánimo" habitualmente prescritos para ayudar a controlar el trastorno bipolar. Están disponibles varios tipos diferentes de estabilizadores del estado de ánimo. En general, las personas con trastorno bipolar continúan el tratamiento con estabilizadores del estado de ánimo durante periodos de tiempo prolongados (años). Se añaden otros medicamentos cuando es necesario, normalmente durante periodos más cortos, para tratar episodios de manía o depresión que aparecen a pesar del estabilizador del estado de ánimo.

35 Ejemplos no limitativos de tales estabilizadores del estado de ánimo son:

• Litio

40 • Medicamentos anticonvulsivos, tales como valproato (Depakote[®]) o carbamazepina (Tegretol[®])

• Medicamentos anticonvulsivos más recientes, incluyendo lamotrigina (Lamictal[®]), gabapentina (Neurontin[®]) y topiramato (Topamax[®])

45 • Medicamentos antipsicóticos atípicos, incluyendo clozapina (Clozaril[®]), olanzapina (Zyprexa[®]), risperidona (Risperdal[®]), quetiapina (Seroquel[®]) y ziprasidona (Geodon[®])

• Medicamento de benzodiazepina tal como clonazepam (Klonopin[®]) o lorazepam (Ativan[®])

50 • Medicamentos sedantes, tales como zolpidem (Ambien[®])

55 La composición farmacéutica de la invención adecuada para el tratamiento de estados inflamatorios e inflamatorios mediados por el sistema inmunitario, tales como septicemia, lesión pulmonar aguda, choque séptico, artritis reumatoide, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, infiltración inflamatoria oncológica, artritis psoriásica, y/o para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar, tal como manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y/o trastorno bipolar de ciclo rápido, contiene al menos un antagonista de bombesina/GRP como principio activo tal como se mencionó anteriormente. Además del al menos un antagonista de bombesina/GRP, la composición farmacéutica de la invención puede contener portadores, diluyentes y/o adyuvantes farmacéuticamente aceptables adecuados, que facilitan el procesamiento del principio activo para dar preparaciones y/o determinar la farmacocinética. Un experto en la técnica conoce bien detalles adicionales sobre técnicas para la formulación de preparaciones farmacéuticas.

65 El antagonista de bombesina/GRP está contenido en la composición farmacéutica de la invención adecuada para el tratamiento de enfermedades inflamatorias e inflamatorias mediadas por el sistema inmunitario y/o trastornos cerebrales en una cantidad terapéuticamente eficaz para alcanzar el propósito previsto. La dosis total real del/de los

antagonista(s) de bombesina/GRP respectivo(s) contenido(s) en la composición farmacéutica que va a administrarse para el tratamiento depende, por ejemplo, de la naturaleza y el estadio de la enfermedad mencionada, la edad y el sexo del paciente, la naturaleza de la administración y la duración del tratamiento. Para la composición farmacéutica de la invención, una dosificación diaria de 0,01 a 10 mg por kg de peso corporal, preferiblemente de 0,015 a 1,5 mg por kg de peso corporal, más preferiblemente de 0,03 a 0,3 mg por kg de peso corporal del al menos un antagonista de bombesina/GRP es adecuada, en la que las dosificaciones diarias del antagonista de bombesina/GRP pueden administrarse en una vez o en dos o más subdosificaciones.

La preparación farmacéutica según la presente invención puede administrarse como una forma farmacéutica líquida, semisólida o sólida como disoluciones, suspensiones, emulsiones, geles, pomadas, espumas, pastas, aerosoles, polvos y otros. Las vías de administración adecuadas pueden incluir, por ejemplo, administraciones por vía dérmica, por vía intravenosa, por vía intramuscular, por vía subcutánea, por vía intranasal y similares. La vía de administración preferida es por vía subcutánea. Preferiblemente, el sujeto que está tratándose es un animal, preferiblemente un mamífero, y lo más preferiblemente un ser humano.

El periodo de acción de los compuestos descritos en el presente documento tales como los compuestos según la fórmula general (I) o la fórmula general (II) puede prolongarse mediante medios adecuados con respecto a los requisitos terapéuticos prácticos. Este objetivo puede alcanzarse mediante medios químicos o farmacéuticos. Los ejemplos de alcanzar una prolongación del periodo de acción son el uso de implantes y liposomas, la formación de sales y complejos de baja solubilidad o el uso de suspensiones cristalinas.

La presente invención se explica con más detalle por medio de los siguientes ejemplos, sin embargo, sin limitarse a los mismos.

Ejemplos

I)

En este caso, los inventores de la presente invención demuestran el potencial terapéutico del antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, para el tratamiento del estado inflamatorio artritis reumatoide.

Demuestran además el potencial terapéutico del antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, para el tratamiento de dos estados inflamatorios, concretamente septicemia y lesión pulmonar aguda. Experimentos relacionados con el efecto de RC-3095 sobre macrófagos revelaron que RC-3095 atenúa la liberación de las citocinas proinflamatorias TNF- α e IL-1 β por macrófagos activados.

In vivo, el tratamiento con el antagonista de receptor de bombesina/GRP, RC-3095, atenúa los niveles de TNF- α e IL-1 β en suero en un modelo bien establecido para septicemia experimental y mejora la supervivencia en estados inflamatorios, en particular en septicemia "establecida", incluso cuando el tratamiento se inicia tras la aparición de la enfermedad. Además, se encontró que el antagonista de receptor de bombesina/GRP, RC-3095, disminuye el daño pulmonar inducido por la instilación intratraqueal de lipopolisacáridos (LPS) en un modelo establecido de lesión pulmonar aguda (ALI).

Además, se mostró que el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, atenúa el daño oxidativo en varios órganos asociado con la respuesta de septicemia y el daño oxidativo al pulmón en ALI. Se sabe bien que las especies reactivas al oxígeno (ROS) muestran varias propiedades proinflamatorias pertinentes para el choque séptico (Salvemini *et al.*, Br. J. Pharmacol. 127, 685-692 (1999); Fantone & Ward, Am. J. Pathol. 107, 395-418 (1982); Ritter *et al.*, Oxidative parameters and mortality in sepsis induced by cecal ligation and perforation, Int. Care Med. (2003)). Además de sus efectos proinflamatorios, ROS presenta varios mecanismos citotóxicos, e induce la activación de la enzima nuclear poli(adenosina 5'-difosfato-ribosa) polimerasa, agotamiento de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) y trifosfato de adenosina (ATP), lo que conduce a daño celular irreversible tal como se demuestra en choque séptico (Szabó *et al.*, Trends Pharmacol. Sci. 19, 287-298 (1999)). Los antioxidantes inhiben la liberación de TNF, la activación de citocinas proinflamatorias, la apoptosis y necrosis celular (Peristeris *et al.*, Cell Immunol. 140, 390-399 (1992)).

Además, RC-3095 puede atenuar la infiltración inflamatoria, la translocación bacteriana intestinal y estos efectos pueden ser responsables, en parte, de los efectos protectores demostrados. Los datos experimentales sugieren que RC-3095 no mostró efectos antioxidantes o antibióticos directos.

Por tanto, los siguientes resultados experimentales representan la identificación de estrategias terapéuticas novedosas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias e inflamatorias mediadas por el sistema inmunitario, en particular septicemia, lesión pulmonar aguda, choque séptico, artritis reumatoide, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, infiltración inflamatoria oncológica, artritis psoriásica y otras enfermedades.

I.1. Realización a modo de ejemplo

Composición con RC-3095

Componentes	Cantidad/Unidad
Sal de acetato de RC-3095	aproximadamente de 6,36 mg a 7,17 mg (correspondiente a 6 mg de base de RC-3095)
Ácido delta-lactona-glucónico	aproximadamente 3,5 mg
Manitol	aproximadamente 96 mg
Peso total por unidad:	aproximadamente 106,27 mg

5 La composición consiste en una torta liofilizada de color blanco en un vial de inyección de 4 ml. Un vial de inyección se reconstituirá con 2 ml de agua para inyección.

Administración

10 Una paciente con artritis reumatoide, 49 años de edad, comenzó el 22 de marzo con 6 mg de RC-3095, dos veces al día. Aplicación por vía subcutánea.

En la visita del nivel inicial la paciente presentaba dolor en las articulaciones de grado 3, inflamación en las articulaciones de grado 2 y depresión de grado 2.

15 Antes de comenzar RC-3095 ya estaba tomando metotrexato, por vía subcutánea, una vez por semana, y corticosteroides.

Se le realizó un seguimiento cada dos semanas mediante exploración física y exámenes de laboratorio.

20 Tras aproximadamente una semana usando RC-3095 mejoraron sus síntomas y su calidad de vida. Los acontecimientos adversos sólo fueron locales (nódulos y prurito).

Puntuación de actividad de la enfermedad - DAS:

25 Visita del 22 de marzo: DAS = 6,69
Visita del 29 de marzo: DAS = 7,20

1.2. Procedimientos experimentales

30 Se realizaron estudios *in vivo* según las directrices de los National Institutes of Health (Institutos nacionales de la salud) y con la aprobación del comité ético de investigación clínica de Brasil. Todos los experimentos se llevaron a cabo usando modelos experimentales en ratas.

1.2.1 Modelo de ligadura del ciego y punción (CLP)

35 En este estudio se usaron ratas Wistar macho de 2-3 meses de edad, sometidas a ligadura del ciego y punción (CLP) tal como se describió anteriormente (Ritter *et al.*, Crit. Care Med. 32, 342-349 (2004)). Se anestesiaron las ratas con una mezcla de ketamina (80 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg), administrados por vía intraperitoneal. En condiciones asépticas, se realizó una laparotomía en la línea media de 3 cm para permitir la exposición del ciego con intestino adyacente. Se ligó estrechamente el ciego con una sutura de seda de 3,0 en su base, por debajo de la válvula ileocecal, y se perforó una vez con una aguja de calibre 14. Entonces se apretó suavemente el ciego para extruir una pequeña cantidad de heces a partir del sitio de la perforación. Entonces se devolvió el ciego a la cavidad peritoneal y se cerró la laparotomía con suturas de seda de 4,0. Las ratas sépticas en este modelo se volvieron bacteriémicas con organismos entéricos gram-negativos (Roesler *et al.* Trends Pharmacol. Sci. 25, 241-242 (2004)).

45 Con los fines de mediciones bioquímicas y análisis histopatológicos (véase a continuación), se volvieron sépticas 24 ratas mediante CLP. Se dividieron los animales en cuatro grupos; 1 – operación simulada, o 2 - CLP, o 3 - CLP más "soporte básico" (solución salina s.c. a 50 ml/kg 6 h y 12 h después de CLP más ceftriaxona s.c. a 30 mg/kg y clindamicina s.c. 25 mg/kg cada 6 h durante tres días, comenzando 6 h después de CLP), y 4 – igual que el grupo 3 con RC-3095 s.c. a 5 mg/kg, una vez al día durante dos días, comenzando 6 h después de CLP. Se extrajo sangre de la vena caudal 3 y 12 horas después de CLP para la determinación de marcadores plasmáticos bioquímicos (véase a continuación). Veinticuatro horas tras la administración del tratamiento se sacrificaron las ratas mediante decapitación seguido por recogida de muestras de la sangre (mediante punción cardiaca), pulmón, hígado, riñón, corazón, íleo y ganglios linfáticos mesentéricos que se almacenaron inmediatamente a -70°C hasta que se sometieron a ensayo para determinar la formación de especies reactivas a ácido tiobarbitúrico (TBARS) y de carbonilo de proteína (como índice de daño oxidativo), o se fijaron para análisis histopatológicos posteriores (véase a continuación).

55 Como índice del estrés oxidativo se usó la formación de especies reactivas a ácido tiobarbitúrico (TBARS) durante una reacción de calentamiento con ácido tal como se describió anteriormente. En resumen, se mezcló la muestra

con ácido tricloroacético al 10% y ácido tiobarbitúrico al 0,67% (Sigma Chemical, St. Louis, MO) y después se calentó en un baño de agua en ebullición durante 15 min. Se determinaron las TBARS mediante la absorbancia a 535 nm usando 1,1,3,3-tetrametoxi-propano como patrón externo. Los resultados se expresan como equivalentes de malondialdehído por miligramo de proteína (ensayo de Lowry). Además se determinó el daño oxidativo a proteínas tal como se describió anteriormente. En resumen, se precipitaron proteínas mediante la adición de ácido tricloroacético al 20% y volvieron a disolverse en dinitrofenilhidrazina (Sigma Chemical, St. Louis, MO) y se leyó la absorbancia a 370 nm.

Se determinaron los niveles en suero de TNF- α , IL-1 β e IL-10 24 h después de CLP mediante ELISA con kits comerciales disponibles (R&D systems, Minneapolis, MN). Se determinaron los marcadores séricos de daño de órganos (aspartato aminotransferasa (AST), glutamato piruvato transaminasa sérica (ALT, sinónimo para glutamato piruvato transaminasa sérica (SGPT)), urea, creatinina, amilasa, lipasa) 3 h, 12 h y 24 h después de CLP mediante kits comerciales disponibles (Labtest, São Paulo, Brasil). Todos estos análisis los realizaron investigadores ciegos para el tratamiento. Para los análisis histopatológicos tras la fijación, se incrustaron tejidos de hígado escindidos en parafina y después se tiñeron de manera rutinaria con hematoxilina y eosina. Un patólogo experimentado ciego realizó análisis histopatológicos.

Como índice para la translocación de bacterias intestinales se recogieron los ganglios linfáticos mesentéricos de cada animal y se homogeneizaron. Se sembraron en placa diluciones en serie de diez veces de los homogeneizados en placas de sangre-agar y se incubaron durante 24 h a 37°C. Se contaron las colonias que aparecieron para determinar el número de bacterias por gramo de ganglios linfáticos.

Se sometió a prueba la supervivencia en una cohorte separada de animales. En un primer protocolo, se asignaron aleatoriamente animales expuestos a CLP a recibir el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, 1 h antes (n=22), o 1 h después (n=25) de inducción con CLP sin "soporte básico". En un segundo conjunto de experimentos, se analizó el efecto de RC-3095 con "soporte básico" para asemejarse más estrechamente a la práctica clínica. Se expusieron los animales a CLP y a "soporte básico" (n=32) (solución salina s.c. a 50 ml/kg 6 h y 12 h después de CLP más ceftriaxona s.c. a 30 mg/kg y clindamicina s.c. 25 mg/kg cada 6 h durante tres días, comenzando 6 h después de CLP) o a "soporte básico" con RC-3095 (n=40) (s.c. a 5 mg/kg, una vez al día durante dos días, comenzando 6 h después de CLP). En todos estos experimentos se incluyó un grupo sometido a operación simulada y un grupo de CLP sin tratamiento para su comparación. Se registró la mortalidad de los animales a lo largo de un periodo de 10 días.

1.2.2 Modelo de ALI (lesión pulmonar aguda)

En este estudio se usaron ratas Wistar macho adultas que pesaban aproximadamente de 250 a 300 g. Se anestesiaron las ratas mediante una inyección intraperitoneal de ketamina (80 mg/kg) y se indujo síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) mediante instilación intratraqueal de lipopolisacáridos (LPS) (*Escherichia coli* 055:B5; Sigma Chemical, St. Louis, MO) a una dosis de 100 μ g/100 g de peso corporal.

Doce horas tras la instilación de LPS, se sacrificaron las ratas y se realizó un lavado bronquioalveolar (BAL) tal como se describió anteriormente. Se centrifugó líquido de BAL (BALF) (1000 g durante 10 min.) y se analizó el sobrenadante libre de células resultante para determinar los diferentes parámetros bioquímicos (véase a continuación). Se usó el sedimento celular para determinar el recuento de células totales y el diferencial (véase a continuación). En una cohorte separada de animales se indujo ARDS tal como se describió anteriormente para aislar tejido pulmonar. Doce horas después de la instilación de LPS, se sacrificaron las ratas y se aislaron muestras del pulmón y se almacenaron inmediatamente a -70°C hasta que se sometieron a ensayo para determinar parámetros de estrés oxidativo o se fijaron en disolución de formalina al 4% para análisis histopatológicos tal como se describió anteriormente.

Se dividieron los animales en tres grupos: grupo 1 - instilación de solución salina isotónica, grupo 2 - ALI tratada con solución salina, grupo 3 - ALI tratada con RC-3095 (5 mg/kg, s.c. 3 h después de ALI) (n=36). Para estimar el grado de lesión de células alveolares y la afectación de membrana alveolar-capilar, se determinaron el recuento de células totales de BALF y el diferencial, el contenido en proteínas y lactato deshidrogenasa (LDH) de BALF. Se evaluaron las células de BALF usando una cámara Neubauer teñida con Giemsa o tinte de exclusión azul de tripano. Se determinó el contenido en proteínas totales de BALF mediante el ensayo de Lowry. Se determinó el contenido en LDH total de BALF usando un espectrofotómetro mediante kits disponibles comercialmente (Lab-Trade, Brasil).

1.2.3 Liberación de macrófagos de TNF- α , IL-1 β e IL-10

Se prepararon macrófagos peritoneales a partir de exudados peritoneales recientemente aislados de ratas Wistar (rata normal o rata 4 h después de CLP). Para el aislamiento de macrófagos, se cultivaron 2×10^7 células de exudado peritoneal en 10 ml de medio RPMI-1640 (Sigma Chemical, St. Louis, MO) complementado con suero bovino fetal al 2% inactivado con calor en placas Petri durante 60 min. a 37°C (ref. CCM). Después se cultivaron macrófagos en medio RPMI-1640 complementado con suero bovino fetal al 10% inactivado con calor durante 4 horas adicionales. Tras este periodo, se expusieron macrófagos aislados de rata normal a LPS (100 ng/ml durante

4 h) y después se asignaron al antagonista de bombesina/GRP, RC-3095 (1 µg/ml o 10 µg/ml) o no. Tras 6 h se recuperó el medio para la determinación de TNF-α, IL-1β e IL-10. Se cultivaron macrófagos aislados de animales expuestos a CLP tal como se describió anteriormente y se trataron con o sin RC-3095 durante 6 h. Tras este periodo se recuperó el medio para la determinación de TNF-α, IL-1β e IL-10.

5

I.3. Resultados y discusión

I.3.1 Modulación de antagonista de bombesina/GRP de TNF-α e IL-1β, pero no de IL-10, liberación de macrófagos

10 Se estimularon cultivos primarios de macrófagos peritoneales de rata con endotoxina y se trataron con el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095. El antagonista de bombesina/GRP atenuó la acumulación de TNF-α e IL-1β inducida por LPS en los medios de cultivo de macrófagos. Este efecto fue más pronunciado a 10 µg/ml (tabla 1), pero fue evidente a 1 µg/ml (datos no mostrados). El antagonista de bombesina/GRP no interfirió con la liberación de la citocina antiinflamatoria IL-10 en ambas dosis estudiadas (datos no mostrados).
 15 cuando se estudiaron macrófagos peritoneales de ratas sometidas a CLP. La liberación de TNF-α e IL-1β se atenuó, pero no la de IL-10, mediante macrófagos activados por CLP, con una inhibición máxima del 50% a una concentración de 10 µg/ml (tabla 1). RC-3095 a 1 µg/ml también atenuó TNF-α e IL-1β liberados a partir de macrófagos activados por CLP (datos no mostrados).

20

Tabla 1. TNF-α e IL-1β liberados mediante macrófagos peritoneales aislados de rata normal expuesta a LPS (100 ng/ml) o aislados de animales expuestos a CLP tratados o no con RC-3095 (10 µg/ml).

	TNF-α	IL-1β
M-LPS	1400 ± 102	250 ± 19
M-LPS + RC	540 ± 86*	102 ± 12*
M-CLP	1983 ± 213	287 ± 32
M-CLP + RC	890 ± 123*	134 ± 11*

M-LPS - macrófagos peritoneales aislados de rata normal expuesta a LPS
 M-LPS + RC – como M-LPS tratados con RC-3095
 M-CLP - macrófagos peritoneales aislados de ratas sometidas a CLP
 M-CLP + RC – como M-CLP tratados con RC-3095
 * diferente de M-LPS o M-CLP, p<0,05

25

Estos datos demuestran que el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, inhibe la liberación mediante macrófagos de TNF-α e IL-1β y esto puede bloquear varios procesos asociados con la progresión de la septicemia. De manera interesante, RC-3095 no modula la liberación del compuesto antiinflamatorio IL-10, lo que sugiere que la ruta intracelular modulada por bombesina/GRP es selectiva de citocinas proinflamatorias.

30

1.3.2 El tratamiento con antagonista de bombesina/GRP mejora la supervivencia en septicemia experimental

Para determinar si el tratamiento mediante el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, podía atenuar los niveles circulantes de TNF-α e IL-1β durante la septicemia, se realizó CLP, un modelo animal clínicamente relevante para la septicemia humana porque provoca peritonitis mortal producida por una infección polimicrobiana (Ritter *et al.*, Crit. Care Med. 32, 342-349 (2004)). Se inició el tratamiento 6 h después de la inducción de septicemia, momento en el cual la rata mostró claros signos de septicemia. Esta administración retardada de RC-3095 atenúa los niveles circulantes de TNF-α e IL-1β 24 h después de la inducción de la septicemia (tabla 2).

40

Tal como se demostró para la liberación de IL-10 a partir de macrófagos, RC-3095 no moduló los niveles circulantes de IL-10 durante la septicemia (datos no mostrados). Esta administración retardada de RC-3095 mejoró significativamente la supervivencia cuando se administró con soporte básico (figura 1). La administración de RC-3095 6 horas después de CLP una vez al día durante 1 día no mejoró la mortalidad en comparación con el "soporte básico" (datos no mostrados), pero el efecto protector fue pronunciado en animales que recibieron RC-3095 una vez al día durante 2 días (figura 1). La administración de RC-3095 1 h antes o 1 h después de CLP sin soporte básico mejoró significativamente la supervivencia en aproximadamente el 50% (datos no mostrados). Estos efectos protectores estuvieron relacionados probablemente con la atenuación del daño en el páncreas (tal como se evaluó mediante niveles circulantes de amilasa), hígado (tal como se evaluó mediante niveles circulantes de aspartato aminotransferasa (AST) y glutamato piruvato transaminasa sérica (ALT)) y en menor grado en el riñón (tal como se evaluó mediante niveles circulantes de urea y creatinina) (tabla 2).

50

El tratamiento mediante el antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, atenuó el daño oxidativo en varios órganos asociados con la respuesta séptica tal como se evaluó mediante niveles de TBARS y carbonilos de proteína (figuras 2 y 3). Este efecto fue más pronunciado en el riñón, íleo y corazón (figuras 2 y 3). El tratamiento con RC-3095 pudo atenuar algunas de las alteraciones histopatológicas observadas en observación con microscopio óptico. El antagonista de bombesina/GRP disminuyó la infiltración inflamatoria en el íleo (figuras 4A y 4B), infiltración inflamatoria y edema alveolar (figuras 4C y 4D) y la aparición leve de necrosis tubular renal (figuras 4E y 4F). La

55

protección frente a daño del íleo se demostró adicionalmente mediante la reducción de 3 veces del recuento bacteriano en ganglios linfáticos mesentéricos (datos no mostrados).

Tabla 2. Marcadores bioquímicos séricos de daño de órganos y respuesta inflamatoria después de CLP.

	CLP		BS		RC-3095	
	12 h	24 h	12 h	24 h	12 h	24 h
Urea (mg/dl)	48 ± 1,3	54 ± 2,1	47 ± 1,7	26 ± 0,6*	27 ± 0,9*	27 ± 0,5*
Creatinina (mg/dl)	0,3 ± 0,01	0,4 ± 0,03	0,4 ± 0,03	0,3 ± 0,01	0,2 ± 0,01	0,2 ± 0,02
AST (UI/l)	418 ± 23	497 ± 31	425 ± 26	393 ± 32	276 ± 19*	301 ± 21*
ALT (UI/l)	87 ± 7	102 ± 12	102 ± 10	87 ± 9	59 ± 7*	52 ± 10
Amilasa (UI/l)	3136 ± 100	2970 ± 99	2956 ± 129	2863 ± 131	2010 ± 102*	1900 ± 121*
TNF- α (pg/ml)	3400 ± 198	2600 ± 175	2100 ± 99*	1200 ± 102*	1130 ± 92**	1021 ± 102*
IL-1 β (pg/ml)	430 ± 41	338 ± 37	367 ± 44	201 ± 32*	209 ± 24*	178 ± 21*

CLP - grupo séptico (n=6)
 BS - grupo séptico con soporte básico (n=6)
 RC-3095 - grupo séptico con soporte básico más RC-3095 (n=6)
 * diferente de grupo CLP, p<0,05
 ** diferente de grupo BS, p<0,05

1.3.2.1 El tratamiento con antagonista de bombesina/GRP atenúa el daño en lesión pulmonar aguda experimental

Para determinar los efectos del antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, en otro modelo animal de enfermedad inflamatoria se realizaron estudios en un modelo experimental de lesión pulmonar aguda (ALI) inducida mediante LPS. El tratamiento con RC-3095 tras la inducción de la lesión pulmonar aguda (ALI) protege parcialmente el parénquima pulmonar frente al daño oxidativo inducido por LPS (figura 5). El antagonista de bombesina/GRP atenuó la infiltración inflamatoria alveolar y la exudación alveolar inducidas por LPS. Estos hallazgos estuvieron respaldados por el contenido en el BALF de células inflamatorias, LDH y contenido en proteínas (tabla 3). La administración de RC-3095 redujo el contenido en células inflamatorias totales del BALF (tabla 3) y la exudación de proteínas (tabla 3). Además, el tratamiento con RC-3095 disminuyó el contenido en LDH del BALF (como índice de lesión de células alveolares) (tabla 3).

Tabla 3. Parámetros celulares y bioquímicos en el BALF de ratas 12 horas después de LPS intratraqueal

Grupo	Recuento de células totales ($\times 10^5$)	Proteínas totales (mg/ml)	Actividad de LDH (UI/l)
Control	51 ± 3,4	40 ± 3,2	1,2 ± 0,1
LPS	500 ± 21*	78 ± 6,5*	16,2 ± 2,3*
LPS + RC	97 ± 4,6**	37 ± 2,1	8,3 ± 1,2**

Control – instilación de solución salina (n=6)
 LPS - lesión pulmonar aguda inducida por LPS (n=6)
 LPS + RC - lesión pulmonar aguda inducida por LPS más RC-3095 (n=6)
 * diferente de control, p<0,05
 ** diferente de LPS, p<0,05

II)

En este caso, los inventores de la presente invención demuestran el potencial terapéutico del antagonista de bombesina/GRP, RC-3095, para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, particularmente trastorno bipolar por medio de un modelo de manía en roedores (hiperactividad inducida por anfetamina en ratas).

Aunque en la actualidad no hay ningún modelo animal adecuado para el trastorno bipolar (BD), se han propuesto algunos modelos de comportamiento sencillos de la manía. Se basan en la hiperactividad, que es uno de los síntomas principales de la manía que pueden imitarse en animales. Se ha propuesto que la hiperactividad inducida por d-anfetamina es un modelo útil para la manía, ya que el comportamiento provocado puede atenuarse mediante la administración de litio o fármacos antiepilépticos a dosis que no aumentan la actividad locomotriz en sí misma. Dosis bajas de anfetamina, tales como 0,5 - 4,0 mg/kg, producen un aumento de la actividad locomotriz, mientras que dosis superiores, tales como 5,0 - 10,0 mg/kg, inducen comportamiento estereotipado (Einat *et al.*, 2000; Machado-Vieira *et al.*, 2004; Frey *et al.*, 2005). Los casos clínicos han sugerido que los efectos eufóricos inducidos por anfetamina en seres humanos pueden atenuarse mediante la administración de litio. De hecho, la magnitud de la liberación de dopamina en la región ventral del cuerpo estriado inducida por anfetamina se correlacionó de manera positiva con la respuesta hedónica en sujetos humanos (Strakowski *et al.*, 1998; Anand *et al.*, 2000).

La bombesina (BN) es uno de los péptidos activos purificados a partir de la piel de anfibios. Este péptido también es activo en mamíferos y su efecto farmacológico se extiende a diversos aspectos fisiológicos. Los receptores para péptidos similares a bombesina son receptores acoplados a proteína G expresados en diversas regiones del cerebro, el pulmón y en el tracto digestivo (para una revisión reciente, véase Moody y Merali, 2004). Las evidencias de que péptidos similares a BN también están implicados en la patogénesis de varios tipos de cáncer humano han conducido al desarrollo de antagonistas de receptor de BN/GRP tales como RC-3095 como posibles fármacos anticancerígenos (Radulovic *et al.*, 1991). Los péptidos similares a bombesina regulan varios aspectos de la función del SNC, incluyendo alimentación, saciedad, aversión, recompensa, ansiedad, así como procesos de aprendizaje y de memoria (Roesler *et al.*, 2004).

Mediante el modelo de rata establecido de manía aguda/trastorno bipolar se demuestra que RC-3095 puede ser una estrategia terapéutica alternativa para el tratamiento o la profilaxis de trastornos cerebrales, preferiblemente trastorno bipolar, y en particular las diferentes formas y/o subformas de trastorno bipolar, tal como manía, manía aguda, manía intensa, hipomanía, depresión, depresión moderada, distimia, depresión intensa, episodios de manía y/o depresión, psicosis/síntomas psicóticos (por ejemplo alucinaciones, delirios), estado bipolar mixto, trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y/o trastorno bipolar de ciclo rápido.

II.1 Materiales y métodos

Animales. Se usó un total de 120 ratas Wistar macho (edad, 2,5-3 meses; peso, 220-340 g) de una colonia de crianza interna. Se alojaron en jaulas de plástico, 5 por jaula, con agua y alimentos disponibles a voluntad, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h (las luces se encienden a las 7:00 h). Todos los procedimientos experimentales se realizaron según la guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio de los NIH y las recomendaciones para el cuidado de animales de la Brazilian Society for Neuroscience and Behavior (SBNeC) (sociedad brasileña de neurociencia y comportamiento).

Fármacos y procedimientos farmacológicos. Se disolvieron d-anfetamina (AMPH, 2,0 mg/kg) y RC-3095 (un obsequio del Dr. J. Engel, Zentaris GmbH, Alemania) en solución salina (SAL, NaCl al 0,9%). Todas las disoluciones se prepararon inmediatamente antes de la administración. A los animales se les administró una inyección intraperitoneal (i.p.) de 10 ml/kg de SAL o RC-3095 (0,1, 1,0 ó 10,0 mg/kg) seguida por una inyección i.p. de SAL o AMPH (1,0 mg/kg) 30 min. después. Por tanto, los grupos experimentales resultantes fueron: SAUSAL; SAUAMPH, RC-3095 0,1 mg/kg/AMPH, RC-3095 1,0 mg/kg/AMPH, RC-3095 10,0 mg/kg/AMPH, RC 3095 0,1 mg/kg/SAL; RC-3095 1,0 mg/kg/SAL; y RC-3095 10,0 mg/kg/SAL.

Prueba de hiperactividad. Se colocaron los animales en un campo abierto de 40 x 60 cm rodeado por paredes de 50 cm de altura fabricadas de contrachapado marrón con una pared de vidrio frontal. El suelo del campo abierto se dividió en 12 rectángulos iguales mediante líneas negras. Se colocaron suavemente los animales en el cuadrante trasero izquierdo y se dejó que exploraran la zona durante 5 min. Se contaron los cruces de líneas negras y las veces que se pusieron a dos patas. Se tomó el número de cruces y de veces que se pusieron a dos patas como una medida de la hiperactividad (Frey *et al.*, 2005).

Análisis estadístico. Todos los datos se presentan como media \pm E.E.M. Se determinaron diferencias entre grupos experimentales mediante ANOVA. Se realizaron múltiples comparaciones mediante una prueba de Tukey. En todos los experimentos, se consideró que valores de p de menos de 0,05 indicaban significación estadística.

II.2 Resultados y discusión

La locomoción aumentada por AMPH y el comportamiento de ponerse a dos patas en ratas tratadas previamente con SAL + RC-3095 previno la hiperactividad relacionada con AMPH a todas las dosis usadas (figura 6). La administración de RC-3095 no alteró otras medidas de comportamiento, lo que indica que los efectos de RC-3095 en ratas tratadas con AMPH no estaban asociados con sedación.

Los presentes resultados indican que la administración sistémica de RC-3095 presenta efectos antimaníacos. Estos efectos se mostraron en un modelo animal de manía aguda inducida por anfetamina. A pesar de las limitaciones bien reconocidas de modelos animales de trastorno bipolar en cuanto a la validez aparente (Frey *et al.*, 2005; Machado-Vieira *et al.*, 2004; Einat *et al.*, 2000), se sabe bien que AMPH induce síntomas maníacos en pacientes con BD (Anand *et al.*, 2000) así como en voluntarios sanos (Strakowski y Sax., 1998).

Aunque está lejos de esclarecerse completamente la fisiopatología precisa de BD, estudios recientes han demostrado que el BD está asociado con cambios en las rutas de señalización intracelular que modulan la supervivencia y la plasticidad neuronal. Las rutas de señalización celular asociadas con la patogénesis de BD incluyen las rutas de la proteína cinasa C (PKC) y de la proteína cinasa activada por mitógenos (MAPK) (Manji y Lenox, 2000; Manji y Chen, 2002), que también se regulan de manera importante por receptores de BN/GRP (Hellmich *et al.*, 1999; Moody y Merali, 2004). Varios tratamientos para la manía aguda, tales como litio, valproato y antipsicóticos atípicos también se usan para prevenir nuevos episodios del trastorno bipolar.

En resumen, los resultados proporcionan evidencias preclínicas de que antagonistas de receptores de BN/GPR tales como RC-3095 pueden presentar propiedades antimaníacas y estabilizantes del estado de ánimo y pueden usarse en el tratamiento o la profilaxis de BD.

- 5 Anand, A., Verhoeff, P., Seneca, N., Zoghbi, S.S., Seibyl, J.P., Charney, D.S., Innis, R.B., 2000. Brain SPECT imaging of amphetamine-induced dopamine release in euthymic bipolar disorder patients. *American Journal of Psychiatry* 157(7), 1108-1114.
- 10 Einat, H., Kofman, O., Belmaker, R.H. 2000. Animal models of bipolar disorder: from a single episode to progressive cycling models. In: Myslobodsky, M., Weiner, I. (Eds.), *Contemporary issues in modeling psychopharmacology*. Boston: Kluwer Academic Publishers, págs. 165-180.
- 15 Frey, B.N., Martins, M.R., Petronilho, F.C., Dal-Pizzol, F., Quevedo, J., Kapczinski, F., 2005. Increased oxidative stress after repeated amphetamine exposure: possible relevance as an animal model of acute mania. *Bipolar Disorders* (en impresión).
- 20 Hellmich, M.R., Ives, K.L., Udipi, V., Soloff, M.S., Greeley, G.H. Jr., 1999. Christensen BN, Townsend CM Jr. Multiple protein kinase pathways are involved in gastrin-releasing peptide receptor-regulated secretion. *Journal of Biological Chemistry* 274, 23901-23909.
- Machado-Vieira, R., Kapczinski, F., Soares, J.C., 2004. Perspectives for the development of animal models of bipolar disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 28, 209-224.
- 25 Manji, H.K., Chen, G., 2002. PKC, MAP kinases and the bcl-2 family of proteins as long-term targets for mood stabilizers. *Molecular Psychiatry* 7(Sup. 1), S46-56.
- Manji, H.K., Lenox, R.H., 2000. Signaling: cellular insights into the pathophysiology of bipolar disorder. *Biological Psychiatry* 48, 518-530.
- 30 Moody, T.W., Merali, Z., 2004. Bombesin-like peptides and associated receptors within the brain: distribution and behavioral implications. *Peptides* 25, 511-520.
- 35 Radulovic, S., Cai, R.Z., Serfozo, P., Groot, K., Redding, T.W., Pinski, J., Schally, A.V., 1991. Biological effects and receptor binding affinities of new pseudonapeptide bombesin/GRP receptor antagonists with N-terminal D-Trp or D-Tpi. *International Journal of Peptide and Protein Research* 38, 593-600.
- Roesler, R., Henriques, J.A.P., Schwartzmann, G., 2004. Neuropeptides and anxiety disorders: bombesin receptors as novel therapeutic targets. *Trends in Pharmacological Sciences* 25, 241-242.
- 40 Strakowski, S.M., Sax, K.W., 1998. Progressive behavioral response to repeated d-amphetamine challenge: further evidence for sensitization in humans. *Biological Psychiatry* 44, 1171-1177.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Antagonista de péptido H-D-Tpi-Gln-Trp-Ala-Val-Gly-His-Leu-psi-Leu-NH₂ (RC-3095), o una sal del mismo con ácidos aceptables farmacéuticos, para su uso para el tratamiento de septicemia, lesión pulmonar aguda, choque séptico y artritis reumatoide.
- 10 2. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según la reivindicación 1, estando el antagonista de péptido o una sal del mismo caracterizado porque está presente en una composición farmacéutica que comprende además al menos otro producto farmacológico, en el que dicho producto farmacológico se selecciona del grupo que consiste en fármacos antiinflamatorios no esteroideos, fármacos analgésicos y glucocorticoides.
- 15 3. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según la reivindicación 2, caracterizado porque el fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) se selecciona de aspirina, indometacina, ibuprofeno e inhibidores de COX-2; el fármaco analgésico se selecciona de paracetamol, propoxifeno, meperidina y morfina; y el glucocorticoide es prednisona.
- 20 4. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según las reivindicaciones 2 ó 3, estando el antagonista de péptido y los productos farmacológicos caracterizado porque se aplican como kit farmacéutico.
- 25 5. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, estando el antagonista de péptido o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo caracterizado porque se administran en una cantidad diaria de 0,01 a 10 mg por kg de peso corporal.
- 30 6. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según la reivindicación 5, estando el antagonista de péptido caracterizado porque se administra en una cantidad diaria de 0,015 a 1,5 mg por kg de peso corporal.
- 35 7. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según la reivindicación 6, estando el antagonista de péptido caracterizado porque se administra en una cantidad diaria de 0,03 a 0,3 mg por kg de peso corporal.
8. Antagonista de péptido o una sal del mismo para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, estando el antagonista de péptido caracterizado porque es adecuado para su administración subcutánea.

Fig. 1

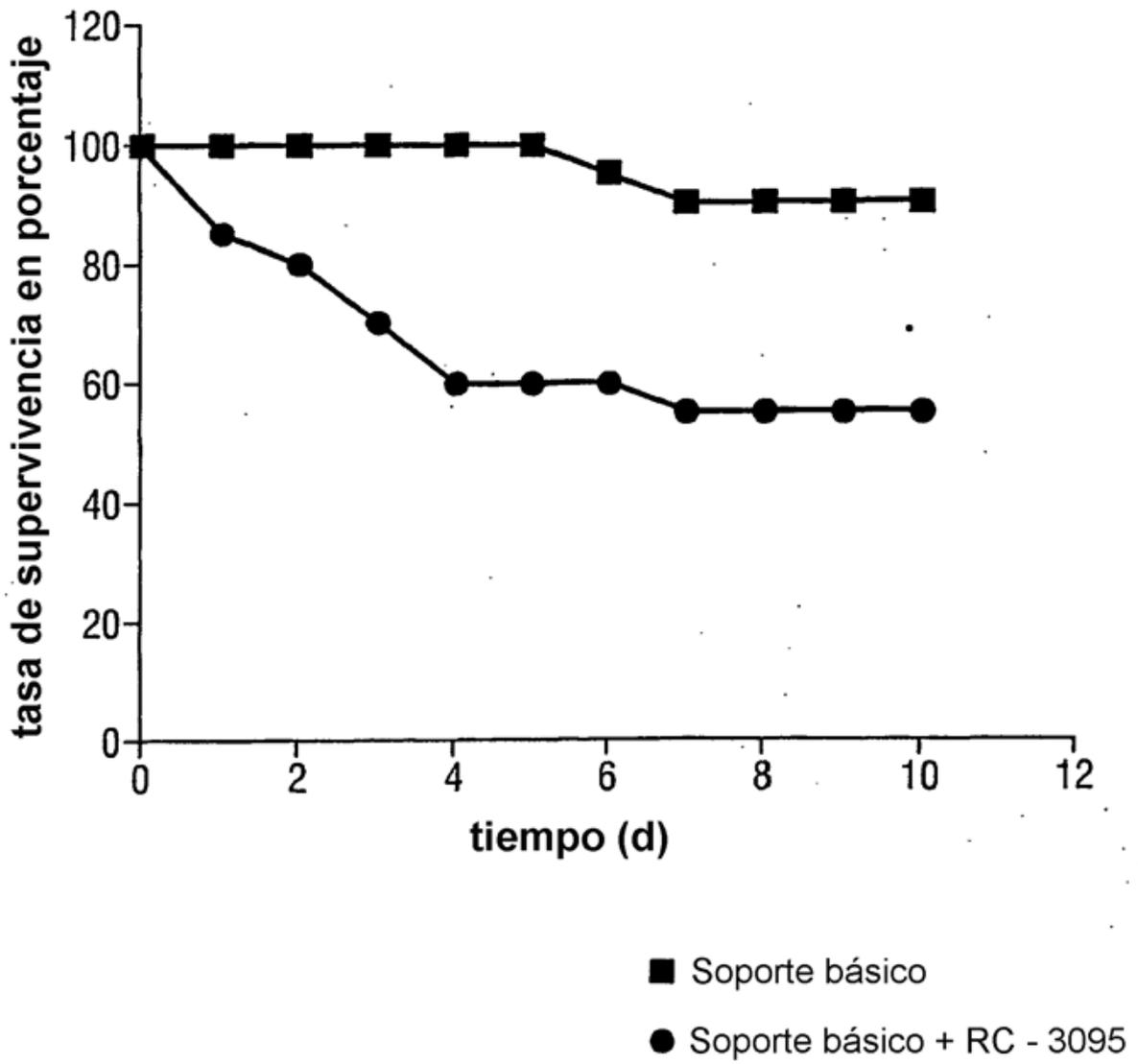


Fig. 2

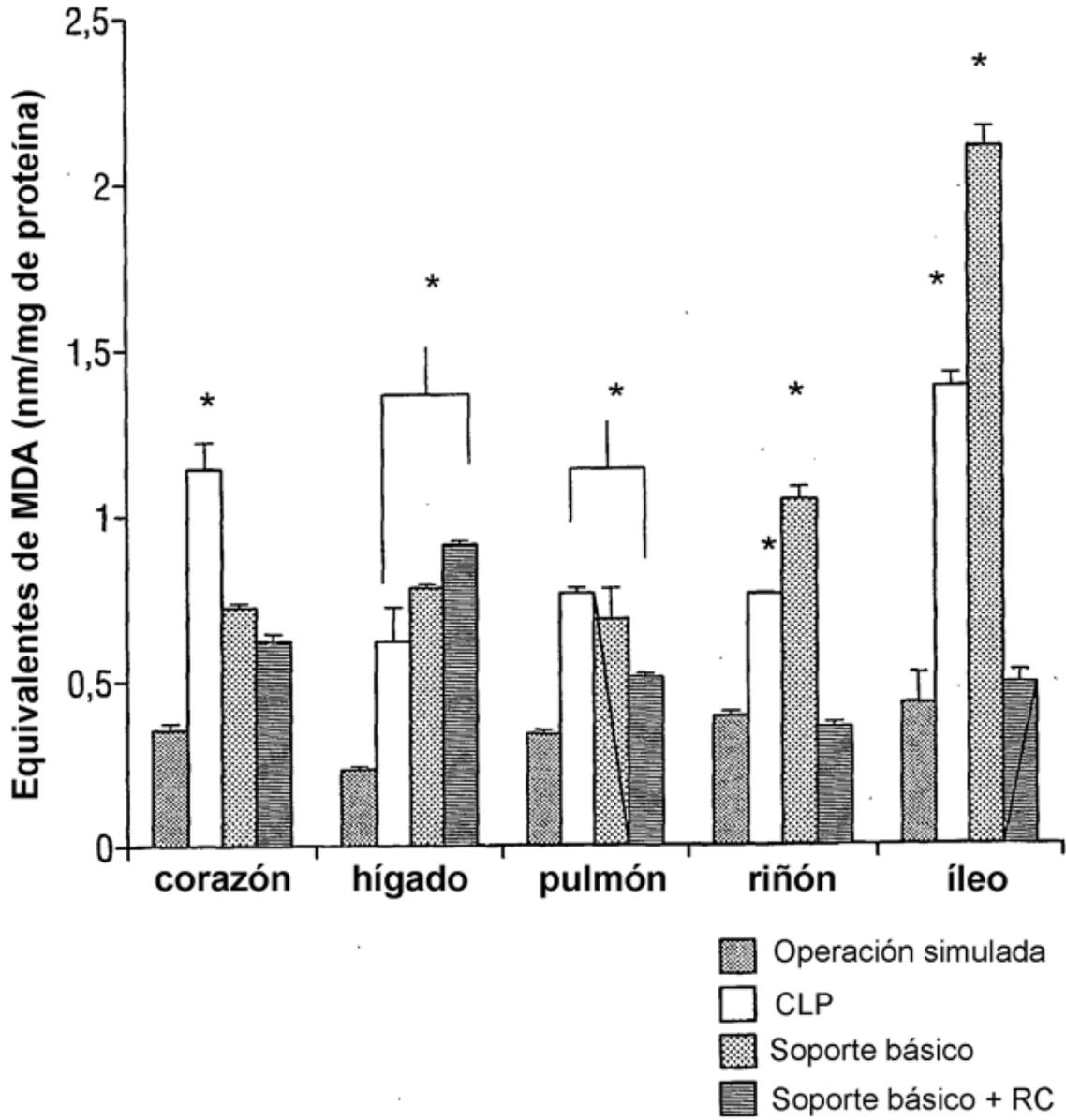


Fig. 3

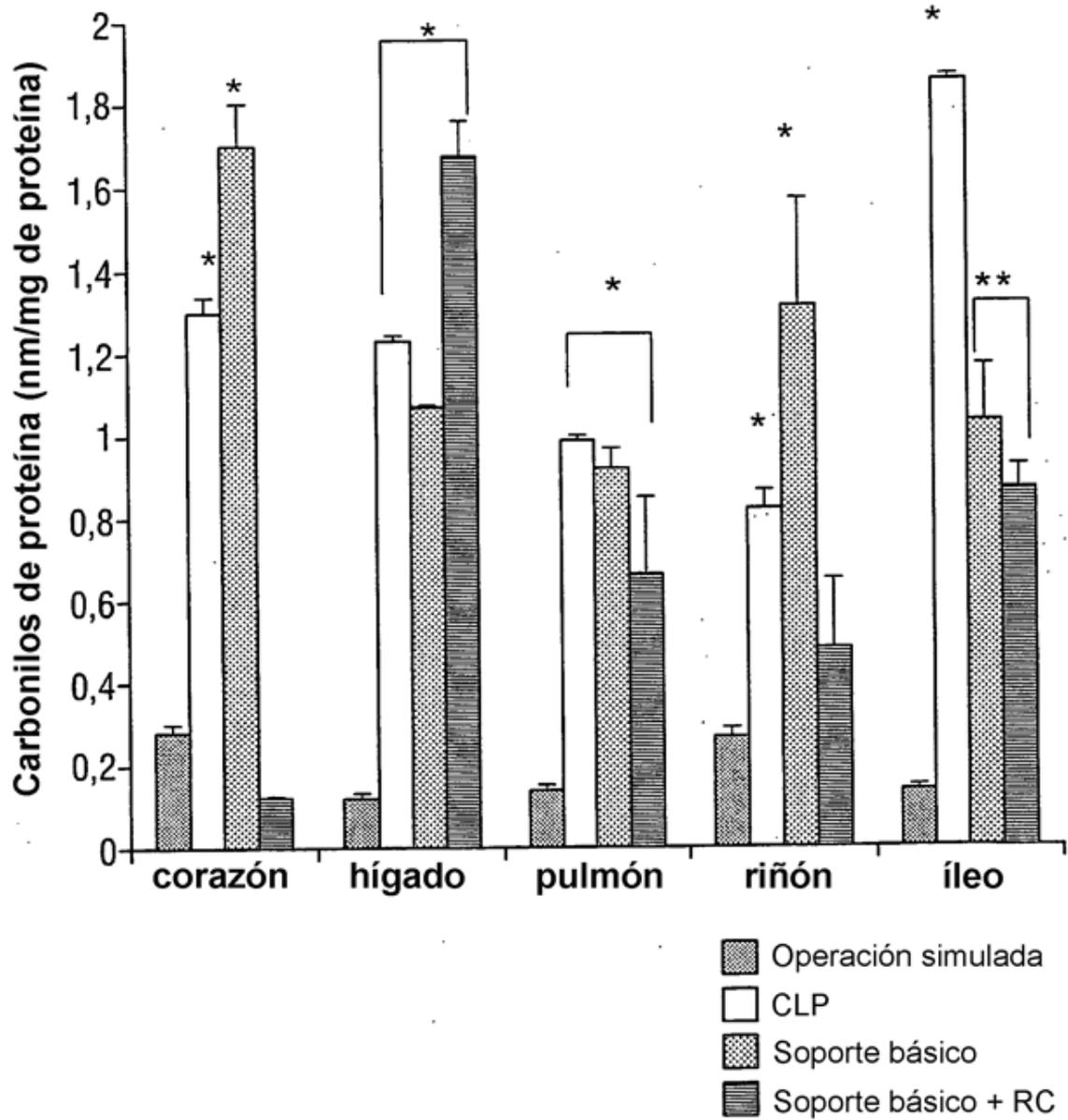


Fig. 4A

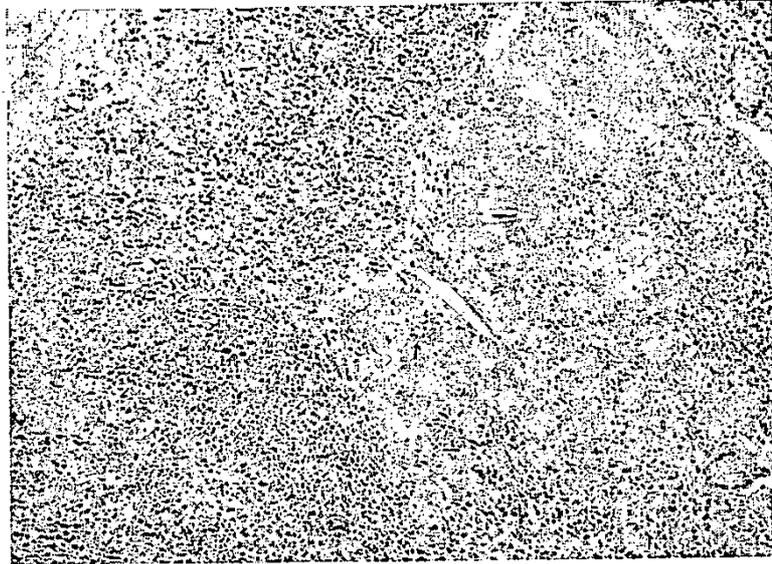


Fig. 4B



Fig. 4C

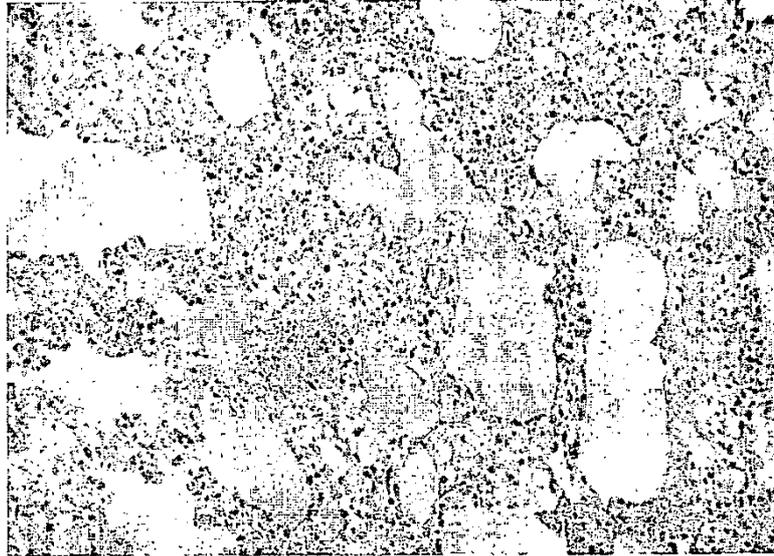


Fig. 4D



Fig. 4E

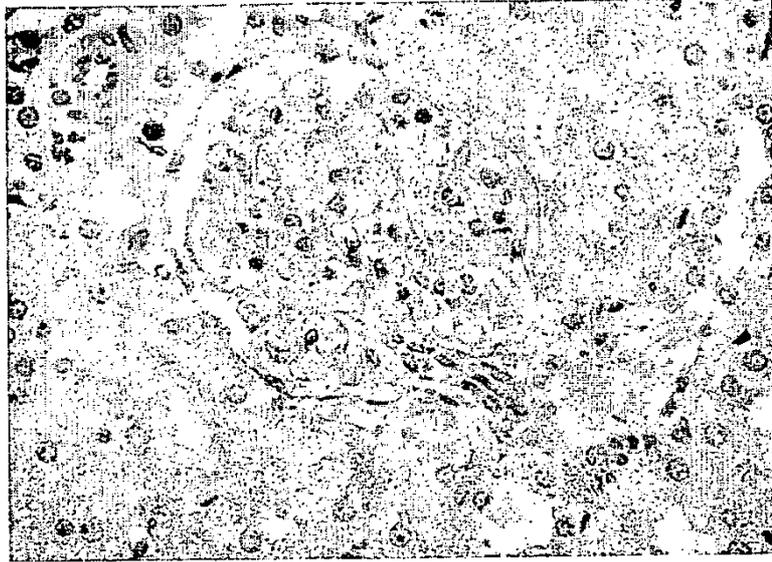


Fig. 4F

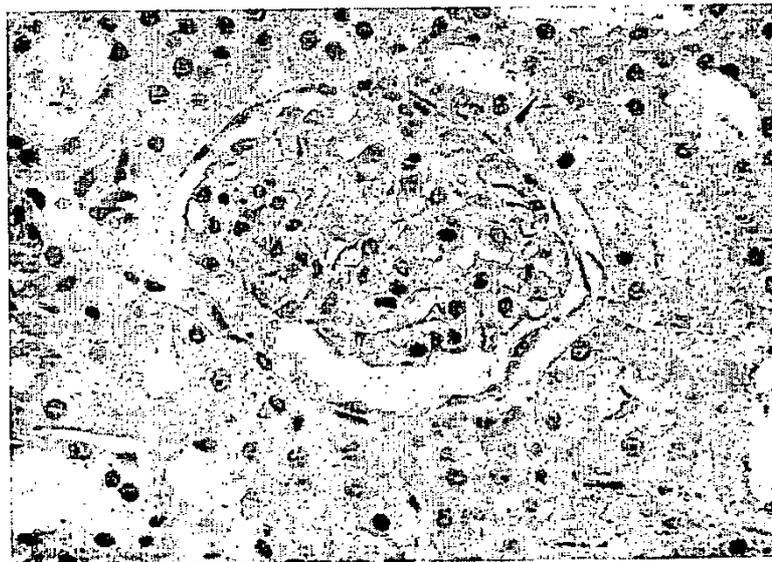


Fig. 5

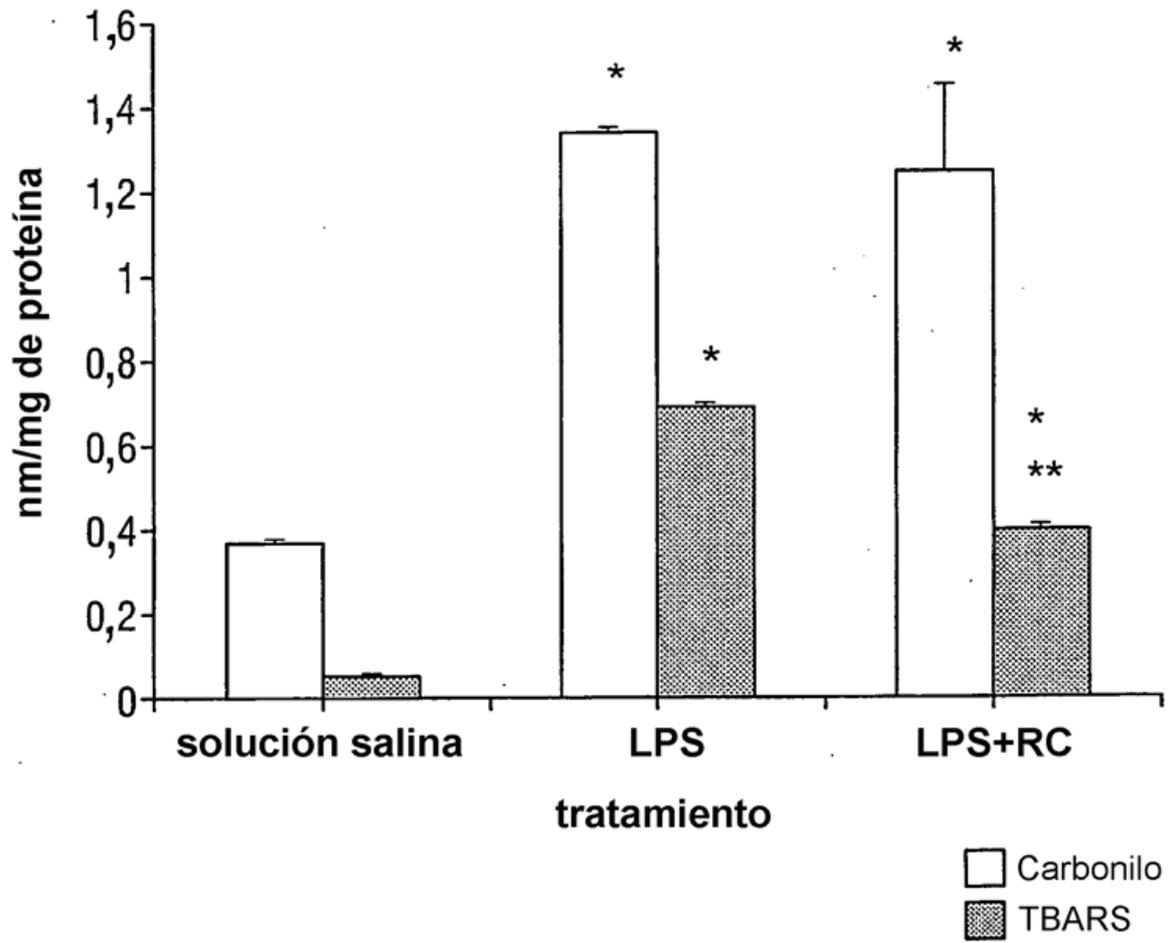


Fig. 6

