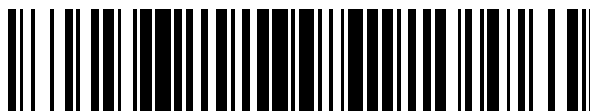


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 460 868**

51 Int. Cl.:

**A61K 33/36** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

**A61P 37/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.02.2008 E 08714162 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014 EP 2114419**

54 Título: **Metaarsenito sódico para usar en el tratamiento del dolor y la inflamación**

30 Prioridad:

**02.02.2007 US 899007 P**

**31.01.2008 US 68006**

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

**14.05.2014**

73 Titular/es:

**PANAPHIX, INC. (100.0%)**

**11 Leroy St.**

**Tenafly, NJ 07670 , US**

72 Inventor/es:

**HWANG, MICHAEL y**

**YANG, YONG-JIN**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 460 868 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

Metaarsenito sódico para usar en el tratamiento del dolor y la inflamación

### Descripción de la invención

5 Esta solicitud reivindica la prioridad de la solicitud provisional nº de serie 60/899,007, presentada el 2 de febrero de 2007.

### Campo de la invención

10 Esta invención se refiere a composiciones para la utilización en el tratamiento del dolor y la inflamación, así como el tratamiento de trastornos autoinmunitarios e inmunológicos utilizando compuestos de arsénico. Más particularmente, la presente invención se refiere a metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) para la utilización en el tratamiento del dolor, la inflamación y trastornos autoinmunitarios e inmunológicos.

### Antecedentes de la invención

15 La percepción del dolor, o nocicepción, está mediada por las terminaciones periféricas de un grupo de neuronas sensitivas especializadas, denominadas nociceptores. Una amplia variedad de estímulos físicos y químicos induce la activación de tales neuronas en mamíferos, conduciendo al reconocimiento de un estímulo potencialmente dañino. Sin embargo, la activación inapropiada o excesiva de nociceptores puede dar como resultado un dolor agudo o crónico debilitante.

20 Generalmente, se experimenta dolor cuando las terminaciones nerviosas libres que constituyen los receptores del dolor de la piel así como de ciertos tejidos internos se someten a estímulos mecánicos, térmicos u otros estímulos nocivos. Los receptores del dolor pueden transmitir señales a lo largo de neuronas aferentes hasta el sistema nervioso central y de allí al cerebro.

Las causas del dolor pueden incluir inflamación, una lesión física, una enfermedad infecciosa, una lesión química o anóxica, un espasmo muscular y el comienzo de un episodio o síndrome neuropático. El dolor tratado ineficazmente puede ser insoportable para la persona que lo experimenta limitando la función, reduciendo la movilidad, complicando el sueño e interfiriendo drásticamente con la calidad de vida.

25 La inflamación es una afección fisiológica caracterizada en la forma aguda por los signos clásicos de dolor, calor, enrojecimiento, hinchazón y pérdida de función. El dolor inflamatorio se puede producir cuando el tejido se daña. Por ejemplo, los episodios físicos, químicos y térmicos, la cirugía, una infección y las enfermedades autoinmunitarias pueden provocar daño e inflamación tisulares. Cuando un tejido se daña, una multitud de sustancias endógenas inductoras de dolor, por ejemplo bradicinina e histamina, se puede liberar desde el tejido lesionado. Las sustancias inductoras de dolor se pueden unir a receptores sobre las terminaciones nerviosas sensitivas y de ese modo iniciar señales de dolor aferentes.

30 Adicionalmente, se pueden liberar sustancias inductoras de dolor desde terminaciones aferentes nociceptivas, y los neuropéptidos liberados de terminaciones sensitivas pueden acentuar una respuesta inflamatoria. Así, durante la inflamación puede haber un brote de fibras periféricas peptidérgicas y un contenido de péptido incrementado, con muchas fibras que muestran una coexistencia de sustancia P (SP, por sus siglas en inglés) y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP, por sus siglas en inglés). La sustancia P puede inducir la contracción de células endoteliales, que a su vez provoca extravasación plasmática para permitir que otras sustancias (bradicinina, AIP, histamina) tengan acceso a la zona de la lesión y las terminaciones nerviosas aferentes. La liberación de sustancia P por la terminación nerviosa sensitiva también puede desgranular los mastocitos. Se cree que este proceso es un factor importante en la inflamación neurogénica debido a la liberación de mediadores inflamatorios tales como histamina y serotonina y la liberación de enzimas proteolíticas que catalizan la producción de bradicinina. El CGRP aparentemente no produce extravasación plasmática, pero es un potente vasodilatador y también actúa sinérgicamente con la SP y otros mediadores inflamatorios para potenciar la extravasación plasmática. Todos los mediadores inflamatorios listados anteriormente pueden bien sensibilizar nociceptores o bien producir dolor. De ahí que la inhibición de la liberación y/o la actividad de mediadores inflamatorios pueda ser útil en el tratamiento de enfermedades inflamatorias comunes tales como, por ejemplo, asma, artritis, dermatitis, rinitis, cistitis, gingivitis, tromboflebitis, glaucoma, enfermedades gastrointestinales o migraña.

45 Aunque el dolor inflamatorio generalmente es reversible y remite cuando el tejido lesionado se ha reparado o el estímulo inductor del dolor se ha retirado, los presentes métodos para tratar el dolor inflamatorio crónico han tenido muchas desventajas y deficiencias. Así, la típica administración oral, parenteral o tópica de un fármaco analgésico para tratar los síntomas del dolor, por ejemplo, un antibiótico para tratar factores que provocan dolor inflamatorio, puede dar como resultado una distribución sistémica amplia del fármaco y efectos secundarios no deseables. Adicionalmente, la terapia actual para el dolor inflamatorio padece de una corta duración de eficacia del fármaco, lo que hace necesario una frecuente readministración de fármaco con posibles tolerancia y resistencia al fármaco, desarrollo de anticuerpos y/o dependencia y adición al fármaco crecientes resultantes, todos los cuales son insatisfactorios. Por otra parte, la administración de fármaco frecuente incrementa el gasto del régimen para el

paciente y puede requerir que el paciente recuerde atenerse a un esquema de dosificación.

Ejemplos de tratamientos para la inflamación y el dolor muscular incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID, por sus siglas en inglés), incluyendo aspirina e ibuprofeno; y opioides, tales como morfina.

5 Los NSAID alivian el dolor inhibiendo la producción de prostaglandinas liberadas por tejidos dañados. Se ha observado que las prostaglandinas son mediadores periféricos del dolor y la inflamación, como en las enfermedades artríticas, y una reducción en su concentración proporciona alivio a los pacientes. Se ha sugerido que las prostaglandinas están implicadas en la mediación del dolor en la médula espinal y el cerebro, lo que puede explicar los efectos analgésicos de los NSAID en algunos estados de dolor que no implican inflamación o daño en los tejidos periféricos. Sin embargo, las prostaglandinas solo son uno de varios mediadores del dolor. Como tales, los NSAID  
10 tienen un techo de actividad por encima del cual las dosis crecientes no proporcionan más alivio del dolor.

Por otra parte, los NSAID tienen efectos secundarios que limitan su utilidad. Por ejemplo, pueden provocar irritación del tracto gastrointestinal y la utilización prolongada puede conducir al desarrollo de una ulceración extendida del intestino. Esto es particularmente cierto en pacientes ancianos que utilizan frecuentemente NSAID para sus afecciones artríticas.

15 Las acciones terapéuticas de los opioides se producen sobre el sistema nervioso central incluyendo el cerebro y la médula espinal. Los opioides inhiben la eficacia de la neurotransmisión entre los aferentes sensitivos primarios (principalmente fibras C) y las neuronas de proyección. Consiguen esto provocando una hiperpolarización prolongada de ambos elementos de estas sinapsis. La utilización de opioides es eficaz para aliviar la mayoría de los tipos de dolor agudo y dolor crónico provocado por los tumores malignos. Sin embargo, hay un número de afecciones dolorosas malignas crónicas que son parcialmente o completamente refractarias a la analgesia con opiodes, particularmente las que implican compresión de nervios, p. ej. por formación y crecimiento de tumores. Desgraciadamente, los opioides también tienen efectos secundarios no deseados, incluyendo depresión del sistema respiratorio, estreñimiento y efectos psicoactivos incluyendo sedación, euforia y dependencia del fármaco. Estos efectos secundarios se producen a dosis similares a las que producen analgesia y, por lo tanto, limitan las dosis que  
20 se pueden suministrar a los pacientes. Adicionalmente, opioides tales como la morfina y la heroína son drogas muy conocidas que a menudo conducen a un incremento rápido en la tolerancia a y la dependencia física del fármaco. Con el desarrollo de la tolerancia, la dosis y la frecuencia del fármaco requeridas para producir el mismo efecto analgésico se incrementan con el tiempo. Esto puede conducir a una afección en la que la dosis requerida para aliviar el dolor persistente crónico es potencialmente mortal debido a los efectos secundarios mencionados previamente. Según se utiliza en la presente memoria, el término "crónico" significa un dolor que dura un mes o más. "Dolor agudo" se define como un dolor de una duración más breve que el dolor crónico y de alta intensidad.

Aunque el dolor que resulta de la inflamación y el espasmo muscular puede estar iniciado por estimulación mecánica o química de la terminación libre de neuronas sensitivas primarias, el dolor neuropático no requiere un estímulo inicial para la terminación de nervios libre periféricos. El dolor neuropático es un síndrome doloroso persistente o  
35 crónico que puede resultar del daño al sistema nervioso, los nervios periféricos, el ganglio de la raíz dorsal, la raíz dorsal o al sistema nervioso central.

El dolor neuropático implica la transmisión de una señal de dolor en ausencia de estímulo, y típicamente resulta de un daño al sistema nervioso. En la mayoría de los casos, se cree que este dolor se produce debido a la sensibilización de los sistemas nerviosos periférico y central después de un daño inicial al sistema periférico (p. ej., a través de una lesión directa o una enfermedad sistémica). Típicamente, el dolor neuropático es urente, fulgurante e implacable en su intensidad y a veces puede ser más debilitante que la lesión o el proceso patológico inicial que lo indujo.

Los tratamientos existentes para el dolor neuropático son en gran parte ineficaces. Los opiáceos, tales como morfina, son analgésicos potentes, pero su utilidad es limitada debido a los efectos secundarios adversos mencionados anteriormente, tales como un rápido desarrollo de tolerancia al fármaco, propiedades de capacidad de adicción física y abstinencia, así como depresión respiratoria, cambios del estado mental, y movilidad intestinal reducida con estreñimiento, náuseas, vómitos concomitantes, y alteraciones en los sistemas endocrino y nervioso. Además, frecuentemente, el dolor neuropático es insensible o sólo parcialmente sensible a regímenes analgésicos con opiodes convencionales. Los tratamientos que emplean el antagonista de N-metil-D-aspartato ketamina o el agonista  $\alpha(2)$ -adrenérgico clonidina pueden reducir el dolor agudo o crónico y permiten una reducción en el consumo de opiodes, pero estos agentes a menudo son poco tolerados debido a los efectos secundarios significativos.

Síndromes de dolor neuropático incluyen alodinia, diversa neuralgias tales como neuralgia posherpética y neuralgia del trigémino, dolor por miembro fantasma y síndromes de dolor regional complejo, tales como distrofia simpática refleja y causalgia. La causalgia se caracteriza a menudo por dolor urente espontáneo combinado con hiperalgesia y alodinia.

Desgraciadamente, no hay un método existente para tratar adecuadamente, predeciblemente y específicamente el dolor neuropático establecido (Woolf C, et al. Neuropathic Pain: A etiology, Symptoms, Mechanisms, and Management, Lancet 1999; 353: 1959-64) ya que los métodos de tratamiento actuales para el dolor neuropático

consisten meramente en tratar de ayudar al paciente a aguantar a través de terapia psicológica u ocupacional, en lugar de reducir o eliminar el dolor experimentado.

Ishii Y. et al. (Shikwa Gakuho (1986), 86(5), 713 - 731) e Ishii Y. et al. (Jap. J. of Pharm. (1984), 36 (Supl.), 216P) ilustran acerca del efecto analgésico del trióxido de arsénico.

- 5 Garcia-Chavez et al. (Neurotoxicology (2006), 27(6), 1024) mencionan que la exposición a arsenito sódico provoca daño en el cerebro, la médula espinal y los nervios periféricos.

Vahidnia A. et al. (Human & Experimental Toxicology (2006), 25(11), 667 - 674) presentan que la exposición a compuestos de arsénico puede conducir a cáncer de piel y pulmón, enfermedad vascular y neuropatía periférica.

- 10 Mavromatis Blanche H. et al. (Blood (2006), 108(11), 299B) muestran la utilidad del trióxido de arsénico para el tratamiento del síndrome mielodisplástico.

Kim K. B. et al. (Cancer (2005), 104(8), 1687-1692) presentan la utilización de trióxido de arsénico para el tratamiento del melanoma metastático.

Au Wing Y. et al. (Proceedings of the American Association for Cancer Research (2006), 47) muestran la utilización de trióxido de arsénico para el tratamiento de un linfoma no hodgkiniano.

- 15 El documento EP1736161 se refiere a la utilización de compuestos de arsénico para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias.

Yin K. et al. (Jiangsu Yiyao (2002), 28(9), 662 - 665) ilustran acerca de la utilización de trióxido de arsénico para tratar la inflamación de las vías respiratorias en cerdos asmáticos.

- 20 Yao X. et al. (Zhongguo Linchuang Kangfu (2004), 8(30), 6652 - 6653) y Zhou Lin-Fu et al. (Jiangsu Med. J. (2002), 28(9), 662 - 665) ilustran acerca de la utilización de trióxido de arsénico para el tratamiento del asma.

Tamura A. (Shika Gakuho 1981), 81(3), 511 - 531) muestra la utilización de trióxido de arsénico para el tratamiento de la inflamación.

Li L. et al. (Zhongguo Bingli Shengli Zazhi (2007), 23(2), 348 - 351) mencionan que el arsenito sódico puede tener efectos terapéuticos en la artritis reumatoide.

- 25 El documento W003/090766 se refiere a la utilización de compuestos de arsénico tales como hexóxido y trióxido de arsénico para el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

Por lo tanto, sigue habiendo una necesidad de un método o un compuesto mejorados para el tratamiento de dolor crónico y agudo incesante, incluyendo dolor inflamatorio. También hay una necesidad de métodos y agentes mejorados para el tratamiento de enfermedades y afecciones inmunológicas y autoinmunitarias. Esto se consigue mediante la administración de compuestos de arsénico, según esta divulgación.

- 30

### Compendio de la invención

La presente invención trata de las limitaciones apuntadas para la técnica precedente y proporciona nuevos métodos para reducir la inflamación y/o el dolor crónico y/o agudo. La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento y la demostración de que el metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) se puede utilizar para reducir la inflamación y el dolor.

- 35

Esta divulgación, según un aspecto de la invención, proporciona métodos para tratar a un mamífero (p. ej., un ser humano) que sufre dolor crónico y/o agudo. Según ciertas realizaciones de este aspecto de la invención, la divulgación proporciona métodos para la utilización de metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) o sus sales, para tratar o prevenir el dolor, incluyendo, por ejemplo, dolor visceral (tal como pancreatitis), dolor relacionado con el cáncer (tal como cáncer metastático), síndromes dolorosos centrales (tales como el dolor provocado por una apoplejía), síndromes dolorosos posquirúrgicos (p. ej., síndrome posmastectómico), dolor óseo y articular (osteoartritis), dolor vertebral (p. ej., lumbalgia aguda y crónica), dolor miofascial (lesión muscular), dolor posoperatorio, perioperatorio y analgesia preventiva, dolor crónico, dismenorrea, así como dolor asociado con angina, y dolor inflamatorio de origen diverso (p. ej., asma, osteoartritis, artritis reumatoide).

- 40

En una realización ejemplar, la invención proporciona la utilización de metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) en la preparación de una composición oral para tratar la hiperalgesia aguda y crónica.

- 45

Dentro de un aspecto de la invención se proporciona un método para tratar la inflamación, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente suficiente de metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) a un mamífero, en donde la administración del compuesto da como resultado una mejora clínicamente significativa en la afección inflamatoria del mamífero. Dentro de una realización de la invención, la mejora clínicamente significativa en la afección inflamatoria incluye una o más de las siguientes: a) una disminución o inhibición en el dolor; b) una disminución o inhibición en la

- 50

hinchazón; c) una disminución o inhibición en el enrojecimiento; d) una disminución o inhibición en la temperatura de un tejido afectado; y e) una disminución o inhibición en la pérdida de función.

5 Se especula, pero no se asegura con el propósito de esta invención, que es probable que se produzca la liberación de histamina, citocininas y otros péptidos en las afecciones inflamatorias, tal como en los pulmones de pacientes asmáticos. Según esto, en una realización, los métodos de la invención implican la administración local o sistémica de metaarsenito sódico para tratar la inflamación y/o el daño tisular presentados, por ejemplo, en vías respiratorias de asmáticos y necrosis relacionada con cáncer.

En otra realización, los métodos de la invención proporcionan la administración oral de metaarsenito sódico para tratar la inflamación en una zona de tejido dañado en un individuo.

10 En otras realizaciones, la invención proporciona métodos para tratar el dolor y/o el daño tisular asociados con la inflamación, p. ej., fibrosis tisular en una enfermedad relacionada con el cáncer o inducida de forma autoinmunitaria. Ejemplos de enfermedades inmunitarias y autoinmunitarias que se pueden tratar mediante los presentes métodos incluyen una enfermedad inmunitaria y autoinmunitaria de los sistemas endocrino, neuromuscular, de tejido conectivo, cardiopulmonar, esquelético y gastrointestinal. En particular, el compuesto de arsénico de la invención se puede utilizar para tratar trastornos autoinmunitarios y trastornos mediados inmunológicamente tales como esclerosis múltiple y otras afecciones relacionadas con el sistema inmunitario.

15 En otra realización, la inflamación y el dolor provocados por una enfermedad infecciosa, incluyendo infecciones bacterianas, virales, parasitarias, se tratan mediante los métodos de la invención.

20 Los métodos de la invención comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de metaarsenito sódico. En realizaciones preferidas, la cantidad terapéutica está en el intervalo de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 200 mg, preferiblemente en dosis divididas que se administran parenteralmente, intratecalmente, oralmente, a través de inhalación o tópicamente. Una dosis diaria total preferida es de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 70 mg; lo más preferiblemente aproximadamente 10 mg/kg.

25 Se especula además, pero no se asegura con el propósito de esta invención, que el metaarsenito sódico inhibe y/o agota leucocitos y linfocitos que están implicados en la producción de anticuerpos autoinmunitarios y el daño a tejidos. Según esto, en una realización ejemplar, los métodos de la invención proporciona la administración oral de metaarsenito sódico para tratar inflamaciones y/o daño tisular inducidos de forma autoinmunitaria.

30 El término "hiperalgesia" o "sensación hiperalgésica", según se utiliza en la presente memoria, se refiere a una sensibilidad extrema al dolor, que en una forma está provocada por el daño a nociceptores en los tejidos blandos del cuerpo. La hiperalgésia se puede experimentar en zonas discretas focales o como una forma más difusa extendida por el cuerpo. Estudios de acondicionamiento han establecido que es posible experimentar una hiperalgésia aprendida de la última forma difusa. Típicamente, la forma focal está asociada con una lesión, y se divide en dos subtipos: La hiperalgésia primaria describe sensibilidad al dolor que se produce directamente en los tejidos dañados. La hiperalgésia secundaria describe sensibilidad al dolor que se produce en tejidos no dañados circundantes.

35 Se ha de entender que tanto la descripción general precedente como la descripción detallada siguiente son solamente ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, según se reivindica.

#### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un gráfico de barras de datos obtenidos a través de la determinación histopatológica de necrosis e inflamación provocadas por una masa tumoral en ratas tratadas con metaarsenito sódico.

#### 40 Descripción detallada de la invención

Esta invención proporciona metaarsenito sódico para la utilización en métodos de tratamiento de un mamífero (p. ej., un ser humano) que sufre dolor y/o enfermedades o afecciones inflamatorias. En realizaciones particulares, tales métodos incluyen la administración oral de metaarsenito sódico (NaAsO<sub>2</sub>) para tratar la inflamación y el dolor agudo y/o crónico.

45 En ciertas realizaciones, se utiliza metaarsenito sódico (NaAsO<sub>2</sub>) para tratar o prevenir el dolor, incluyendo, por ejemplo, dolor visceral (tal como pancreatitis, cistitis intersticial, cólico renal, prostatitis, dolor pélvico crónico), dolor relacionado con cáncer, las "diniás", p. ej., vulvodinia, dolor de miembros fantasma, avulsiones radicales, radiculopatía, mononeuropatía traumática dolorosa, neuropatía compresiva dolorosa, síndrome del túnel carpiano, neuropatía cubital, síndrome del túnel tarsiano, neuropatía diabética dolorosa, polineuropatía dolorosa, neuralgia del trigémino), síndromes dolorosos centrales (potencialmente provocados virtualmente por cualquier lesión a cualquier nivel del sistema nervioso incluyendo, pero no limitada a, apoplejía, esclerosis múltiple, lesión de la médula espinal) y síndromes dolorosos posquirúrgicos (p. ej. síndrome posmastectómico, síndrome postoracotómico, dolor de muñones), dolor óseo y articular (osteoartritis), dolor vertebral (p. ej., lumbalgia aguda y crónica, dolor de cuello, estenosis vertebral), dolor de hombro, dolor por movimientos repetitivos, dolor agudo tal como dolor dental, faringitis, 50 dolor por cáncer, dolor miofascial (lesión muscular, fibromialgia), dolor posoperatorio, perioperatorio y analgesia

preventiva (incluyendo, pero no limitado a cirugía general, ortopédica y ginecológica), dolor crónico, dismenorrea (primaria y secundaria), así como dolor asociado con angina, y dolor inflamatorio de orígenes diversos incluyendo reacciones inmunológicas y enfermedades autoinmunitarias (p. ej., osteoartritis, artritis reumatoide, enfermedad reumática, tenosinovitis y gota, espondilitis anquilosante, bursitis, lupus).

- 5 El compuesto reivindicado por la presente invención también se puede utilizar para el tratamiento de cefalea incluyendo cefalea en brotes, migraña, incluyendo la utilización profiláctica y aguda.

El técnico experto apreciará que el dolor es un trastorno heterogéneo. En los métodos y las composiciones según la invención, el término "dolor" se referirá a todos los tipos de dolor, incluyendo dolor agudo y persistente. Preferiblemente, el término se referirá a dolores persistentes, tales como, pero no limitados a, neuropatía diabética, fibromialgia, dolor asociado con trastornos somatoformos, dolor artrítico, dolor por cáncer, dolor de cuello, dolor de hombro, dolor de espalda, cefaleas en brotes, cefalea por tensión, migraña, neuralgia herpética, dolor de miembros fantasma, dolor central, dolor dental, dolor resistente a NSAID, dolor visceral, dolor quirúrgico, dolor posoperatorio, dolor por lesiones óseas, dolor durante las contracciones y el parto, dolor resultante de quemaduras, incluyendo quemaduras solares, dolor posparto, dolor por angina, y dolor relacionado con el tracto genitourinario incluyendo cistitis. El término dolor persistente también se referirá preferiblemente a dolor nociceptivo o nocicepción.

Dentro de otro aspecto de la invención se proporciona un método para tratar la inflamación, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente suficiente de metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) a un mamífero, en donde la administración del compuesto da como resultado una mejora clínicamente significativa en la afección inflamatoria del mamífero. Dentro de una realización de la invención, la mejora clínicamente significativa en la afección inflamatoria incluye una o más de las siguientes: a) una disminución o inhibición en el dolor; b) una disminución o inhibición en la hinchazón; c) una disminución o inhibición en el enrojecimiento; d) una disminución o inhibición en el calor; y e) una disminución o inhibición en la pérdida de función.

El asma es una enfermedad de las vías respiratorias que contiene elementos tanto de inflamación como de broncoconstricción. Los regímenes de tratamiento para el asma se basan en la gravedad de la afección. Los casos leves bien se dejan sin tratar o bien solo se tratan con agonistas  $\beta$  inhalados que afectan al elemento broncoconstrictivo, mientras que los pacientes con asma más grave típicamente son tratados regularmente con corticosteroides inhalados que en un alto grado son de naturaleza antiinflamatoria.

En ciertas otras realizaciones de la invención, se utiliza metaarsenito sódico para tratar o prevenir las vías respiratorias hiperreactivas y para tratar o prevenir episodios inflamatorios asociados con una enfermedad de las vías respiratorias, p. ej., asma incluyendo asma alérgica (atópica o no atópica), así como broncoconstricción inducida por ejercicio, asma laboral, exacerbación viral o bacteriana del asma, otras asma no alérgicas y "síndrome del niño sibilante".

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD, por sus siglas en inglés) es otra enfermedad común con componentes inflamatorios y broncoconstrictivos. La enfermedad es potencialmente letal, y la morbilidad y la mortalidad de la afección son considerables. En la actualidad, no hay un tratamiento farmacológico conocido capaz de cambiar el curso de la enfermedad.

El compuesto de arsénico de la invención, es decir metaarsenito sódico según una realización ejemplar de la presente invención, también se puede utilizar para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluyendo enfisema, síndrome de fatiga respiratoria del adulto, bronquitis, neumonía, rinitis alérgica (estacional y perenne) y rinitis vasomotriz. También puede ser eficaz contra neumoconiosis, incluyendo aluminosis, antracosis, asbestosis, calicosis, ptilosis, siderosis, silicosis, tabacosis y bisinosis.

Por otra parte, el metaarsenito sódico, según otras realizaciones de la presente invención, se puede utilizar para el tratamiento de una enfermedad intestinal inflamatoria incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa, síndrome del intestino irritable, pancreatitis, nefritis, cistitis (cistitis intersticial), uveitis, trastornos inflamatorios de la piel tales como psoriasis y eccema o artritis reumatoide. Se puede utilizar para tratar la vasculopatía diabética, la neuropatía diabética, la retinopatía diabética o síntomas diabéticos asociados con insulinitis (p. ej. hiperglucemia, diuresis, proteinuria y excreción urinaria incrementada de nitrito y calicreína). Adicionalmente, puede ser eficaz contra la esclerosis múltiple.

En otra realización, el compuesto de arsénico de la invención se utiliza para prevenir y/o tratar una enfermedad hepática inflamatoria o esclerosis múltiple.

En una realización, se administra metaarsenito sódico a un mamífero para reducir o prevenir la liberación de histamina.

En otras realizaciones, según la presente invención, se administra metaarsenito sódico a un mamífero (p. ej., un ser humano) para tratar o reducir síntomas de inflamación asociados con enfermedades mediadas inmunitariamente y/o autoinmunitarias, tales como, por ejemplo, lupus eritematoso sistémico (SLE, por sus siglas en inglés), artritis reumatoide (RA, por sus siglas en inglés) autoinmunitaria, vasculitis sistémica; diabetes mellitus insulino dependiente (IDDM [por sus siglas en inglés]; diabetes tipo I), enfermedad intestinal inflamatoria (IBD, por sus siglas en inglés),

5 enfermedad del injerto contra el hospedador (GVHO, por sus siglas en inglés), enfermedad celíaca, enfermedad tiroidea autoinmunitaria, síndrome de Sjögren, gastritis autoinmunitaria, colitis ulcerativa; enfermedad de Crohn; hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria; colangitis esclerosante primaria; enfermedades autoinmunitarias cutáneas, cardiomiopatía dilatada autoinmunitaria, esclerosis múltiple (MS, por sus siglas en inglés), miastenia grave (MG), vasculitis (p. ej., arteritis de Takayasu y granulomatosis de Wegener), enfermedades autoinmunitarias del músculo, trastornos neuromusculares autoinmunitarios, tales como espondilitis anquilosante, esclerosis múltiple y encefalitis diseminada aguda; neuropatías mediadas inmunitariamente; enfermedades autoinmunitarias de los testículos, una enfermedad ovárica autoinmunitaria, uveítis autoinmunitaria, enfermedad de Graves, psoriasis, espondilitis anquilosante, enfermedad de Addison, tiroiditis de Hashimoto, púrpura trombocitopénica idiopática, una enfermedad pulmonar autoinmunitaria tal como enfermedad de Wegener y síndrome de Churg-Strauss; enfermedades pulmonares inmunológicas tales como asma, enfermedad pulmonar infiltrante, enfermedad pulmonar por hipersensibilidad y sarcoidosis; dermatomiosis incluyendo escleroderma y polimiosis; y vitíligo.

Se espera que los métodos de la invención frenen o detengan el avance de la inflamación, mejoren al menos algunos síntomas, el funcionamiento y/o incrementen la supervivencia y la recuperación.

15 Según otro cierto aspecto de la presente invención, se puede utilizar metaarsenito sódico ( $\text{NaAsO}_2$ ) para inhibir y/o agotar leucocitos o linfocitos y sus secreciones, que están asociados con el comienzo de trastornos autoinmunitarios en un ser humano. Según una realización de este aspecto de la invención, la administración de metaarsenito sódico puede dar como resultado una reducción en los niveles de autoanticuerpos, células B que producen autoanticuerpos y/o células T autorreactivas. La reducción en cualquiera de estos tipos de células o sus secreciones puede ser, por ejemplo, al menos 10%, 20%, 30%, 50%, 70% o más en comparación con los niveles anteriores al tratamiento.

Según la presente invención el metaarsenito sódico se puede utilizar solo o en combinación con otras medicaciones para el dolor y/o antiinflamatorias tales como, por ejemplo, NSAID.

Modelos en animales de las susodichas enfermedades y afecciones se conocen generalmente en la técnica, y pueden ser adecuados para evaluar el compuesto de la presente invención con respecto a sus utilidades potenciales. Finalmente, el compuesto de la presente invención también es útil como una herramienta de investigación (in vivo e in vitro).

El compuesto de la invención se puede utilizar para tratar a un mamífero que tiene dolor y/o inflamación, p. ej., dolor asociado a artritis reumatoide o inflamación asociada a asma. Ejemplos de mamíferos incluyen seres humanos u otros primates (p. ej., chimpancés), roedores (p. ej., ratones, ratas o cobayas), conejos, gatos, perros, caballos, vacas y cerdos. En algunos de los sujetos afectados, se espera que el tratamiento dé como resultado la inhibición del avance de y la mejora en los síntomas de dolor y/o inflamación.

#### Método de administración

Se puede utilizar cualquier modo de administración según la presente invención, incluyendo administración parenteral tal como administración intravenosa, subcutánea, intramuscular e intratecal; también se puede utilizar la administración oral, intranasal, rectal o vaginal; directamente al tumor; parches transdérmicos; dispositivos de implante (particularmente para una liberación lenta); inhaladores, administración con depósitos de acción prolongada y, finalmente, se puede utilizar la administración tópica. El modo de administración variará según el tipo de compuesto de arsénico que se utilice y la enfermedad a tratar.

Las composiciones farmacéuticas que se van a utilizar pueden estar en la forma de soluciones estériles fisiológicamente aceptables (acuosas u orgánicas), suspensiones coloidales, cremas, pomadas, pastas, cápsulas, comprimidos oblongos, comprimidos y obleas. Las composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de arsénico de la invención pueden estar contenidas en recipientes y/o ampollas de vidrio estériles sellados. Además, el ingrediente activo puede estar microencapsulado, encapsulado en un liposoma, noisoma o lipoespuma solo o junto con anticuerpos de orientación. Se debe entender que también se incluyen formas de administración de liberación lenta retardada o sostenida.

#### Formulación

El compuesto de arsénico de la invención se puede formular como preparaciones farmacéuticas para la administración a mamíferos para el tratamiento del dolor y la inflamación.

Para la administración oral, la preparación farmacéutica puede estar en forma líquida, por ejemplo, soluciones, jarabes o suspensiones, o se puede presentar como un producto farmacológico para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes de la utilización. Tales preparaciones líquidas se pueden preparar mediante medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (p. ej., jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (p. ej., lecitina o goma arábica); vehículos no acuosos (p. ej., aceite de almendra, ésteres oleosos o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (p. ej., p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico). Las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, comprimidos o cápsulas preparados por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (p. ej., almidón de maíz pregelatinizado,

polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (p. ej., lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato cálcico); lubricantes (p. ej., estearato magnésico, talco o sílice); desintegrantes (p. ej., almidón de patata o almidón glicolato sódico); o agentes humectantes (p. ej., laurilsulfato sódico). Los comprimidos se pueden revestir mediante métodos muy conocidos en la técnica.

- 5 Las preparaciones para administración oral se pueden formular adecuadamente para dar una liberación controlada del compuesto activo.

Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de comprimidos o pastillas para chupar formulados de modo convencional.

- 10 Para la administración mediante inhalación, los compuestos para la utilización según la presente invención se suministran convenientemente en la forma de una presentación para pulverización de aerosol desde envases presurizados o un nebulizador, con la utilización de un propelente adecuado, p. ej., diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación se puede determinar proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Se pueden formular cápsulas y cartuchos de, p. ej., gelatina para la utilización en un inhalador o un insuflador que contienen un polvo mixto del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

- 15 Los compuestos se pueden formular para la administración parenteral mediante inyección, p. ej. inyección en embolada o infusión continua. Tales formulaciones son estériles. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, p. ej., en ampollas o en recipientes de múltiples dosis, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para la constitución con un vehículo adecuado, p. ej., agua estéril libre de pirógenos, antes de la utilización.

- 20 Los compuestos también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, p. ej., que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

- 25 Además de las formulaciones descritas previamente, los compuestos también se pueden formular como una preparación de depósito. Tales formulaciones de acción prolongada se pueden administrar mediante implante (por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente) o mediante inyección intramuscular. Así, por ejemplo, los compuestos se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos muy conocidos de vehículos o portadores de suministro para fármacos hidrófilos.

- 30 Si se desea, las composiciones se pueden presentar en un envase o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen el ingrediente activo. Por ejemplo, el envase puede comprender una lámina metalizada o plástica, tal como un blíster. El envase o dispositivo dispensador puede estar acompañado por instrucciones para la administración.

- 35 La invención también proporciona estuches ("kits") para llevar a cabo los regímenes terapéuticos de la invención. Tales estuches comprenden en uno o más recipientes cantidades terapéuticamente eficaces de los compuestos de arsénico en forma farmacéuticamente aceptable. El compuesto de arsénico en un vial de un estuche de la invención puede estar en la forma de una solución farmacéuticamente aceptable, p. ej., en combinación con solución salina estéril, solución de dextrosa o solución tamponada, u otro fluido estéril farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, el complejo puede estar liofilizado o desecado; en este caso, el estuche comprende además opcionalmente en un recipiente una solución farmacéuticamente aceptable (p. ej., solución salina, solución de dextrosa, etc.), preferiblemente estéril, para reconstituir el complejo para formar una solución con propósitos de inyección. El estuche también puede incluir otro agente o agentes terapéuticos para el tratamiento del dolor y/o la inflamación en una cantidad apropiada. Este otro agente terapéutico se puede formular como un fármaco de combinación con el compuesto de arsénico contenido en el estuche, o se puede formular separadamente.

- 40 En otra realización, un estuche de la invención comprende además una aguja o jeringa, preferiblemente envasada en forma estéril, para inyectar el complejo, y/o una compresa con alcohol envasada. Se incluyen opcionalmente instrucciones para la administración de los compuestos de arsénico por un médico o por el paciente.

- 45 La magnitud de una dosis terapéutica de un compuesto de arsénico en la atención aguda o crónica del dolor y/o la inflamación variará con la gravedad de la afección que se vaya a tratar y la vía de administración. La dosis, y quizá la frecuencia de las dosis, también variará según la edad, el peso corporal, la afección y la respuesta del paciente individual. En general, los intervalos de dosis diarias totales para las afecciones descritas en la presente memoria son generalmente de aproximadamente 10 µg a aproximadamente 200 mg administrados en dosis divididas administradas parenteralmente u oralmente o tópicamente. Una dosis diaria total preferida es de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 70 mg/kg del ingrediente activo; y lo más preferiblemente aproximadamente 10 mg/kg.



Una dosificación eficaz conseguida en un animal se puede convertir para la utilización en otro animal, incluyendo seres humanos, utilizando factores de conversión conocidos en la técnica. Véase, p. ej., Freireich et al., Cancer Chemother Reports 50(4):219-244 (1966) y la Tabla 1 para factores de dosificación superficial equivalentes.

Tabla 1

De:	Ratón (20 g)	Rata (150 g)	Mono (3,5 kg)	Perro (8 kg)	Ser humano (60 kg)
A:					
Ratón (20 g)	1	0,5	0,25	0,17	0,08
Rata (150 g)	2	1	0,5	0,25	0,14
Mono (3,5 kg)	4	2	1	0,6	0,33
Perro (8 kg)	6	4	1,7	1	0,5
Ser humano (60 kg)	12	7	3	2	1

5 Se pueden mantener niveles en sangre deseables mediante una infusión continua de un compuesto de arsénico según se determina por los niveles plasmáticos. Debe apuntarse que el médico responsable debería saber cómo y cuándo terminar, interrumpir o ajustar la terapia a una dosificación inferior debido a toxicidad, o disfunciones de la médula ósea, el hígado o el riñón. A la inversa, el médico responsable también debería saber cómo y cuándo ajustar el tratamiento hasta niveles superiores si la respuesta clínica no es adecuada (excluyendo efectos secundarios tóxicos).

10 De nuevo, se puede emplear cualquier vía de administración adecuada para proporcionar al paciente una dosificación eficaz de un compuesto de arsénico. Por ejemplo, se puede emplear administración oral, rectal, vaginal, transdérmica, parenteral (subcutánea, intramuscular, intratecal y similares). Las formas de dosificación incluyen comprimidos, pastillas para chupar, una oblea, dispersiones, suspensiones, soluciones, cápsulas, parches y similares. (Véase Remington's Pharmaceutical Sciences).

15 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un compuesto de arsénico como el ingrediente activo, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y también pueden contener un portador farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos, por ejemplo medicaciones convencionales para la terapia del dolor. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de ácidos y bases atóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos y bases inorgánicos y orgánicos.

20 Las composiciones farmacéuticas incluyen composiciones adecuadas para las vías oral, rectal, mucosa, transdérmica, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intratecal e intravenosa), aunque la vía más adecuada en cualquier caso dado dependerá de la naturaleza y la gravedad de la afección que se trate.

25 En caso de que se emplee una composición para inyección o infusión intravenosa, un intervalo de dosificación adecuado para la utilización es, p. ej., de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 150 mg de dosis diaria total.

Además, el portador de arsénico se podría aportar a través de matrices cargadas y no cargadas utilizadas como dispositivos de aporte de fármacos tales como membranas de acetato de celulosa, también a través de sistemas de aporte dirigidos tales como liposomas fusogénicos unidos a anticuerpos o antígenos específicos.

30 En la utilización práctica, un compuesto de arsénico se puede combinar como el ingrediente activo en una mezcla íntima con un portador farmacéutico según las técnicas de composición farmacéutica convencionales. El portador puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, p. ej. oral o parenteral (incluyendo comprimidos, cápsulas, polvos, inyecciones o infusiones intravenosas). Al preparar las composiciones para una forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, p. ej. agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes saborizantes, conservantes, agentes colorantes y similares; en el caso de las preparaciones líquidas orales, p. ej. suspensiones, soluciones, elixires, liposomas y aerosoles; almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares; en el caso de las preparaciones sólidas orales, p. ej. polvos, cápsulas y comprimidos. Al preparar las composiciones para una forma de dosificación parenteral, tal como una inyección o infusión intravenosa, se pueden emplear medios farmacéuticos similares, p. ej., agua, glicoles, aceites, tampones, azúcar, conservantes y similares conocidos por los expertos en la técnica. Ejemplos de tales composiciones parenterales incluyen, pero no se limitan a, dextrosa al 5% p/v, solución salina normal u otras soluciones. La dosis total del compuesto de arsénico se puede administrar en un vial de fluido intravenoso, p. ej., que varía de aproximadamente 2 ml a aproximadamente 2.000 ml. El volumen de fluido de dilución variará según la dosis total administrada.

Otras realizaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica considerando la memoria

descriptiva y la práctica de la invención divulgada en la presente memoria.

### **Ejemplos**

Ejemplo 1. Utilización de modelos en animales para probar la actividad analgésica

5 Se utilizaron modelos en animales para el dolor inducido químicamente para determinar la actividad analgésica de diversas concentraciones de metaarsenito sódico y trióxido de arsénico.

10 Prueba de formalina en ratones. Se administró metaarsenito sódico o trióxido de arsénico oralmente (VO) o intraperitonealmente (IP), respectivamente, a grupos de diez ratones macho derivados de CD-1 (crl.) que pesaban 24 +/- 2 g. Se administraron cada uno de metaarsenito sódico y vehículo (agua destilada) o trióxido de arsénico y vehículo una hora antes de la inyección subplantar de formalina (0,02 ml, solución al 2%). La reducción del tiempo de lamedura inducida por formalina de la pata trasera registrado a intervalos de cinco minutos durante el siguiente período de 0 a 35 minutos después de la inyección de formalina en 50% o más ( $\geq 50\%$ ) indicaba una actividad analgésica significativa. El análisis estadístico se realizó utilizando ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Dunnett para comparar los resultados obtenidos con metaarsenito sódico o trióxido de arsénico con los obtenido con vehículo (referencia) solo. La significación se consideró en  $P < 0,05$ . Los resultados se resumen posteriormente:

Metaarsenito sódico

Tratamiento	Ruta	Dosis mg/kg	Tiempo de lamedura de la para trasera (Segundos) (Media±EEM)						
			Tiempo (minutos)						
			0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35
Vehículo	VO-	-	66,7±6,4	0,9±0,9	10,1±4,3	81,7±20,7	72,4±25,4	30,8±10,1	4,8±10,6
SMA	VO	10	51,2±5,2	0,1±0,1	4,7±4,6	6,5*±4,5	20,5±10,8	29,2±7,6	6,6±4,2
SMA	VO	1	54,9±6,3	2,7±1,8	7,6±2,8	44,6±13,5	55,7±13,9	45,0±19,3	21,3±9,7
SMA	VO	0,1	76,1±8,6	4,3±4,2	24,0±10,4	69,4±13,0	46,0±11,8	44,6±13,0	4,9±1,8
Morfina	VO	30	20,8±3,6	0,1±0,1	2,0±1,8	2,0*±2,0	10,4*±8,2	16,2±8,4	3,3±1,8
SMA: metaarsenito sódico									
P<0,05 frente al grupo de referencia con vehículo									

Los resultados indican que la administración oral de metaarsenito sódico en 10 mg/kg provocaba una actividad analgésica significativa a los 15-20 minutos después de la estimulación con formalina. El patrón, morfina, provocaba un efecto analgésico significativo durante las fases inicial (0-5 minutos) y final (15-25 minutos) después de la inyección de formalina, como se esperaba.

5

Trióxido de arsénico

Tratamiento	Ruta	Dosis mg/kg	Tiempo de lamedura de la para trasera (Segundos) (Media±EEM)						
			0-5	5-10	10-15	15-20	20-25	25-30	30-35
Vehículo	IP-	5 ml/kg X	78,9	8,5	40,5	58,7	78,8	61,3	20,7
		SEM	6,8	2,7	10,5	18,8	15,0	20,2	12,4
TA	IP	10 mg/kg X	9,0*	0,3*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0*	0,0
		SEM	6,3	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
TA	IP	1 mg/kg X	74,6	2,6*	15,6*	40,0	57,1	53,5	30,0
		SEM	11,3	1,5	5,5	13,3	18,1	15,3	18,8
Morfina	IP	10 mg/ml X	29,7*	0,0*	0,7*	3,3*	22,8*	30,1	48,0
		SEM	5,2	0,0	0,7	1,7	13,8	6,4	11,5

TA: Trióxido de arsénico  
\*: P<0,05 frente al grupo de referencia con vehículo utilizando ANOVA unidireccional seguido por la prueba de Dunnett

10

La inyección intraperitoneal de trióxido de arsénico en 10 mg/kg provocaba una inhibición significativa de la respuesta de lamedura a la estimulación con formalina a los intervalos de 0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25 y 25-30 minutos después de la estimulación con formalina, mientras que la respuesta a la dosis inferior de trióxido de arsénico (1 mg/kg) estaba limitada a los intervalos de 5-10 y 10-15 minutos después de la estimulación. El HCl de morfina administrado al mismo tiempo se asociaba con un efecto analgésico a los 0-25 minutos después de la estimulación con formalina.

15

Ensayo de respuesta dolorosa inducida por ácido acético. El metaarsenito sódico se evaluó con respecto a la actividad analgésica en el ensayo de respuesta dolorosa inducida por ácido acético en ratones. El metaarsenito sódico se administró oralmente en dosis de 10, 1 y 0,1 mg/kg para la posible analgesia en el ratón. Se utilizó agua destilada como vehículo. Una hora antes de la inyección de ácido acético (0,5%, 20 ml/kg IP), se administró oralmente metaarsenito sódico a grupos de 10 ratones macho derivados de CD-1, que pesaban 24 ± 2 g. Una actividad analgésica significativa se definió como una reducción en el número de respuestas de contorsión en 50% o más (≥50%) con relación a los grupos de referencia a los 5-10 minutos después de la administración de ácido acético.

20

La administración de 10 mg/kg de metaarsenito sódico estaba asociada con una actividad analgésica significativa (media 7 episodios de contorsión frente a 16 para la referencia). En dosis inferiores el metaarsenito sódico no tenía efecto analgésico.

Ejemplo 2. Utilización de modelos en animales para probar la actividad antiinflamatoria de metaarsenito sódico y trióxido de arsénico

25

El metaarsenito sódico y el trióxido de arsénico se probaron con respecto a posibles efectos protectores contra el choque séptico inducido por lipopolisacárido en ratones.

30

Producción de citocinas proinflamatorias inducida por LPS. Se administró metaarsenito sódico oralmente en dosis de 0,1, 1 y 10 mg/kg, una hora antes de la estimulación con lipopolisacárido (LPS; 30 mg/kg IP; *Escherichia coli* 055:B5). Dos horas después de la estimulación con LPS, se tomaron muestras de sangre de 0,1 ml de los ratones a través de la ruta retroorbital y se centrifugaron para dar plasma para las medidas de citocinas mediante Luminex. Después de la extracción de sangre, la mortalidad se verificó y se registró cada 12 horas a lo largo de un período de 3 días. La reducción en la mortalidad en 50 por ciento o más (≥50%) indica una protección significativa. Los resultados se muestran en la tabla posterior:

## Metaarsenito sódico:

Vía	Dosis	% de Protección
VO	10 mg/kg	25
VO	1,0 mg/kg	25
VO	0,1 mg/kg	12
21-Acetato de dexametasona		
VO	3 mg/kg	(75)

Los resultados muestran que el metaarsenito sódico en dosis de 0,1, 1,0 y 10 mg/kg VO proporcionaba una protección moderada contra el choque séptico inducido por LPS en ratones. También se observaba una inhibición significativa de la secreción de IL-1 $\beta$  con 1 y 10 mg/kg VO de metaarsenito sódico y la inhibición de IL-6 (frente a dexametasona en 3 mg/kg) en 10 mg/kg. El metaarsenito sódico no tenía efecto sobre la secreción de TNF- $\alpha$ , KC o MCP-1.

Neutrofilia inducida por LPS en tejido pulmonar. El metaarsenito sódico se evaluó con respecto a la posible actividad protectora en un modelo en ratones de neutrofilia inducida por LPS en tejidos pulmonares. El metaarsenito sódico en dosis de 0,1, 1 y 10 mg/kg se administró oralmente (VO) dos horas antes de la estimulación con LPS. Veinticuatro horas después de la estimulación con LPS, se recogió fluido de lavado broncoalveolar de animales individuales para los números de células total y diferencial.

El metaarsenito sódico en 10 mg/kg VO no se asociaba con cambios significativos en los números de células. Sin embargo, con 1 mg/kg se observaba una disminución significativa en los números de glóbulos blancos (total) y neutrófilos (diferencial) y monocitos frente a la referencia con vehículo tratada con LPS.

La dexametasona en 1 mg/kg VO proporcionaba una protección significativa por lo que se refiere a la supresión del número de glóbulos blancos total, así como el número de neutrófilos y de monocitos diferencial con relación a la referencia.

Con 10 mg/kg, pero no 1 o 0,1 mg/kg, la administración de metaarsenito sódico se correlacionaba con una supresión significativa de TNF- $\alpha$  similar a la dexametasona, el patrón. Con 1 mg/kg, pero no 0,1 mg/kg o 10 mg/kg, la administración de metaarsenito sódico se correlacionaba con una reducción significativa en KC similar a la dexametasona. El efecto sobre KC no parecía estar relacionado con la dosis. Sin concentración de metaarsenito sódico se observaba secreción de IL-1 $\beta$ , IL-6 o MCP-1 en el fluido de lavado broncoalveolar.

## Ejemplo 3. Estudios de inmunosupresión

Se ha utilizado la hiperplasia de los ganglios linfáticos poplíteos (PLN, por sus siglas en inglés) como un indicador fiable de la reacción del sistema linfático en estudios del receptor contra el injerto. El modelo de trasplante cardíaco heterotrópico en la rata se ha utilizado satisfactoriamente para evaluar agentes inmunosupresores. Una combinación de ensayo de hiperplasia de PLN y modelo de trasplante cardíaco se utilizó para obtener información relativa a la eficacia de linfocitos del receptor tanto en la proliferación alorreactiva como en el alorrechazo. Los resultados muestran que el metaarsenito sódico tiene efectos inmunosupresores.

Trasplante cardíaco. Corazones de donantes se trasplantaron al ratón receptor según se describe (Chen et al., Transplantation, 56:661-666, 1993; Chen et al., The Journal of Immunology, 152:3107-3318, 1994). Los corazones de donantes trasplantados se verificaron cada día y se administró metaarsenito sódico durante dos semanas o hasta que el injerto era rechazado, lo que ocurriera en primer lugar.

En el modelo de trasplante de corazón, el metaarsenito sódico a la dosis superior (10 mg/kg) mostraba un ligero efecto inmunosupresor en animales tratados con aloantígeno y un efecto positivo global sobre el trasplante. Parece que el metaarsenito sódico puede comprometer la reacción de linfocitos del receptor a aloantígeno a la dosis superior. Así, los compuestos de arsénico de la invención también son agentes inmunosupresores.

## Ejemplo 4. Artritis inducida por colágeno tipo II.

La artritis por colágeno en ratas es un modelo experimental de poliartritis que se ha utilizado ampliamente para la prueba preclínica de numerosos agentes antiartríticos que bien están bajo investigación preclínica o clínica o bien se utilizan actualmente como agentes terapéuticos en esta enfermedad. Las características distintivas de este modelo son un comienzo fiable y el avance de una inflamación poliarticular consistente fácilmente medible, una marcada destrucción de cartílagos con formación de paño y reabsorción ósea y proliferación ósea perióstica de suaves a moderadas. Los agentes terapéuticos que inhiben la producción o la actividad de IL-1 son especialmente activos en este sistema de prueba, pero otros tipos de agentes antiinflamatorios tienen una actividad de buena a excelente.

Este estudio se acometió para determinar la eficacia oral (VO) sensible a los dosis de metaarsenito sódico y la eficacia intraperitoneal (IP) de trióxido de arsénico, respectivamente, administrados diariamente para la inhibición de la inflamación (hinchazón de la pata), la destrucción de cartílagos y la reabsorción ósea que se produce en el desarrollo de la artritis por colágeno tipo II en ratas.

5 Los animales (8 por grupo, 4 por grupo para los normales) fueron anestesiados con isoflurano y fueron inyectados con 300 µl de adyuvante incompleto de Freund (Difco, Detroit, MI) que contenía 2 mg/ml de colágeno tipo II bovino (Elastin products, Owensville, Missouri) en la base de la cola y dos zonas en el lomo los días 0 y 6. La dosificación por vía IP u oral (cada día a intervalos de 24 horas) se inició el día 0 del estudio y continuó hasta el día 16. Los grupos experimentales eran como sigue:

10 Metaarsenito sódico:

Grupo	N	Tratamiento: Oral, cada día los días 0-16, 5 ml/kg
1	4	Referencias normales más agua
2	10	Artritis más agua
3	10	Artritis más metaarsenito sódico 10 mg/kg
4	10	Artritis más metaarsenito sódico 5 mg/kg

Trióxido de arsénico:

Grupo	N	Tratamiento cada día los días 0-16, 10 ml/kg IP grupos 1-4
1	4	Referencias normales más vehículo IP
2	8	Artritis más vehículo
3	8	Artritis más trióxido de arsénico 10 mg/kg IP
4	8	Artritis más trióxido de arsénico 1 mg/kg IP
5	8	Artritis más trióxido de arsénico 10 mg/kg VO (5 ml/kg)

15 Las ratas fueron pesadas los días 0, 3, 6, 9-17 del estudio y se tomaron medidas con calibre de los tobillos todos los días empezando el día 9 (o día 0 de la artritis). Después de la medida del peso final el día 17, los animales fueron anestesiados para la toma de suero y a continuación se sometieron a eutanasia para la toma de tejidos. Las patas traseras se cortaron transversalmente al nivel del maleolo medial y lateral, se pesaron y se pusieron en formalina, con las rodillas, para la microscopía. El hígado, el bazo y el timo se extirparon de cada animal, se pesaron y se descartaron.

20 Se realizó un muestreo FC los días 16 utilizando 6 animales por grupo (artríticos) como sigue: los animales 1, 2, 3 se sangraron para las muestras de predosificación, de 2 y 8 horas; los animales 6, 7 y 8 se sangraron para las muestras de posdosificación de 1, 4 y 12 horas.

25 Se determinó la patología morfológica de las ratas tratadas con metaarsenito sódico, pero no se realizó nada para los animales tratados con trióxido de arsénico. Para estas pruebas, las articulaciones del tobillo y la rodilla conservadas y descalcificadas se cortaron por la mitad longitudinalmente (tobillos) o por el plano frontal (rodillas), se procesaron a través de alcoholes graduados y un agente de aclaramiento, se infiltraron y se embebieron en parafina, se seccionaron y se tiñeron con azul de toluidina. Todos los tejidos fueron examinados microscópicamente por un patólogo veterinario certificado.

30 A los tobillos y las rodillas artríticos por colágeno se les dieron puntuaciones de 0-5 (0 = normal; 5 = grave) con respecto a la inflamación, la formación de paño y la reabsorción ósea. El análisis estadístico de los parámetros de los pesos de los cuerpos/las patas, el ABC (área bajo la curva) de las patas y los parámetros histopatológicos se evaluaron utilizando una prueba de la t de Student con una significación fijada al nivel de significación de 5%.

El porcentaje de inhibición del peso de la pata y el ABC se calcularon utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = A - B/A \times 100$$

A = Media de referencia para la enfermedad - Media normales

B = Media tratados - Media normales

35 Resultados: Metaarsenito sódico: La pérdida de peso corporal (debido a la artritis) se inhibía significativamente mediante el tratamiento con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (100% de inhibición) o MTX (96%), en comparación con las ratas de referencia para la enfermedad tratadas con vehículo.

Valor de ED<sub>50</sub> calculado = 1,929 mg/kg.

Se observó una inhibición significativa del diámetro del tobillo en ratas tratadas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (días 9, 11-17) o MTX (días 10-17).

5 La inhibición del diámetro del tobillo (ABC) era significativa para ratas tratadas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (73% de inhibición) o MTX (97%), en comparación con las referencias para la enfermedad. Valor de ED<sub>50</sub> calculado = 8,499 mg/kg.

La inhibición del peso final de la pata era significativa para ratas tratadas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (83%) o MTX (95%), en comparación con las referencias para la enfermedad.

Valor de ED<sub>50</sub> calculado = 7,116 mg/kg,

10 Los pesos relativos del hígado se incrementaban, por encima de las referencias normales y artríticas para ratas tratadas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (17% de incremento sobre las referencias para la enfermedad).

Los pesos relativos de los bazo se reducían mediante el tratamiento con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (10%) o MTX (10%), en comparación con las ratas de referencia para la enfermedad.

15 Los pesos relativos de los timos se reducían significativamente en ratas tratadas con 1 mg/kg de metaarsenito sódico (20%), en comparación con las referencias para la enfermedad.

20 Todas las ratas de referencia para la enfermedad tratadas con vehículo tenían sinovitis e inflamación periarticular de notables a graves en al menos una, y habitualmente ambas, articulaciones del tobillo, con paño y reabsorción ósea moderados, y daño en los cartílagos de mínimo a notable. En contraste, todos los parámetros histopatológicos del tobillo eran inhibidos significativamente hasta lo normal en ratas tratadas con inhibición con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (85%) o MTX (97%). Valor calculado de ED<sub>50</sub> = 7,080 mg/kg,

25 Las diez ratas de referencia para la enfermedad tratadas con vehículo tenían sinovitis e inflamación periarticular de moderadas a graves en al menos una articulación de la rodilla, con paño y reabsorción ósea de mínimos a moderados, y daño a los cartílagos. En contraste, los parámetros histopatológicos de la rodilla eran inhibidos significativamente hacia los normales en ratas tratadas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (87% de inhibición) o MTX (100%). Valor calculado de ED<sub>50</sub> = 7,924 mg/kg.

Los resultados obtenidos a partir de este estudio indican que el tratamiento oral diario de ratas con 10 mg/kg de metaarsenito sódico inhibe eficazmente los cambios clínicos e histopatológicos asociados con el desarrollo de artritis por colágeno tipo II.

30 Resultados: Trióxido de arsénico y metaarsenito sódico: La pérdida de peso corporal era inhibida significativamente mediante el tratamiento IP cada día con 10 mg/kg de trióxido de arsénico (55% de inhibición), o el tratamiento VO cada día con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (85%), en comparación con las ratas de referencia para la enfermedad tratadas con vehículo.

35 Se observaba una reducción significativa en el diámetro del tobillo en ratas tratadas con 10 mg/kg de trióxido de arsénico (días 10-17) o 10 mg/kg de metaarsenito sódico (días 11-17). La inhibición del ABC del diámetro del tobillo era significativa para ratas tratadas IP cada día con 10 mg/kg de trióxido de arsénico (80% de inhibición); y VO cada día con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (66%), en comparación con las referencias para la enfermedad.

La inhibición para el peso final de la pata era significativa para ratas tratadas IP cada día con 10 mg/kg de trióxido de arsénico (71% de inhibición) o VO cada día con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (69%), en comparación con las referencias para la enfermedad.

40 Los pesos relativos del hígado se incrementaban por encima de las referencias artríticas para ratas tratadas con 1 o 10 mg/kg de trióxido de arsénico (6% y 10%, respectivamente) o 10 mg/kg de metaarsenito sódico (14%).

45 Los pesos relativos de los bazo se reducían, por debajo de las referencias normales y artríticas, mediante el tratamiento con 10 mg/kg de trióxido de arsénico (21%) o 10 mg/kg de metaarsenito sódico (10%), en comparación con las ratas de referencia para la enfermedad. Los pesos relativos del timo se reducían por debajo de las referencias artríticas en ratas tratadas con 10 mg/kg de trióxido de arsénico.

Los resultados de este estudio indican que el tratamiento diario intraperitoneal de ratas con 10 mg/kg de trióxido de arsénico o el tratamiento diario oral con 10 mg/kg de metaarsenito sódico inhibe eficazmente los cambios clínicos asociados con el desarrollo de artritis por colágeno tipo II.

Ejemplo 5. Artritis inducida por adyuvante

50 Este estudio se acometió para evaluar el efecto del metaarsenito sódico (VO, cada día los días 0-13) en la inhibición de la inflamación periarticular y la reabsorción ósea de artritis por adyuvante establecida. La artritis por adyuvante en

ratas es un modelo experimental de poliartritis que se ha utilizado ampliamente para la prueba preclínica de numerosos agentes antiartríticos. Las características distintivas de este modelo son un comienzo fiable y el avance de una inflamación poliarticular potente fácilmente medible, reabsorción ósea y proliferación ósea perióstica notables. Se produce destrucción de cartílagos, pero es desproporcionadamente leve en comparación con la inflamación y la destrucción ósea que se produce. La utilización del modelo del adyuvante proporciona una oportunidad para estudiar cambios patológicos en una variedad de tejidos distintos a las articulaciones.

Los animales fueron asignados aleatoriamente a los grupos (8 por grupo para el adyuvante, 4 por grupo para las referencias normales y fueron anestesiados con isoflurano y se les inyectaron 100 µl de adyuvante completo de Freund (Sigma, St. Louis, MO) que contenía amina lipóide (60 mg/ml) en la base de la cola el día 0. La dosificación mediante la vía VO se inició el día 0 (tratamiento profiláctico) con vehículo (agua), metaarsenito sódico (3, 10 o 30 mg/kg) o metotrexato (MTX) (0,1 mg/kg). El tratamiento continuaba hasta el día 13.

Los grupos experimentales eran como sigue:

Grupo	N	Tratamiento: VO, cada día los días 0-13
1	4	Referencias normales más agua
2	8	Adyuvante más agua
3	8	Adyuvante más metaarsenito sódico 30 mg/kg
4	8	Adyuvante más metaarsenito sódico 10 mg/kg
5	8	Adyuvante más metaarsenito sódico 3 mg/kg
6	8	Adyuvante más MTX 0,1 mg/kg

Las ratas se pesaron los días 0, 4 y 8-13, momentos en los que se ajustaron los volúmenes de la dosis. El día 7 (antes del comienzo de la hinchazón, pero después del establecimiento de la enfermedad sistémica), se realizaron medidas con calibre de las articulaciones de los tobillos. Los tobillos se midieron de nuevo los días 8-14. Los pesos corporales finales se tomaron el día 14. El día 14, los animales fueron sometidos a eutanasia y las patas traseras, el hígado y el bazo se extirparon y se pesaron. Las patas y el bazo se pusieron en formalina y se procesaron para H&E y microscopio.

A los tobillos artríticos por adyuvante (solos los derechos) se les dieron puntuaciones de 0-5 (0 = normal; 5 = grave) con respecto a la inflamación y la reabsorción ósea. El análisis estadístico del diámetro de la articulación del tobillo se analizó determinando el área bajo la curva de dosificación (ABC). Para el cálculo del ABC, la medida diaria de las articulaciones de los tobillos (utilizando un calibre) para cada rata se introdujo en Microsoft Excel donde se computó el área entre los días de tratamiento después del comienzo de la enfermedad hasta el día de la terminación. Se determinaron las medias para cada grupo y el % de inhibición para las referencias de artritis se calculó comparando los valores para animales tratados y normales. Los pesos de las patas, los pesos del bazo y el hígado y los parámetros histológicos (media ± EE) para cada grupo se analizaron con respecto a las diferencias utilizando la prueba de la t de Student u otros análisis apropiados según se determinaba después de observar los datos. En ambos casos, la significación se fijaba en  $p \leq 0,05$ .

El porcentaje de inhibición del peso de la pata y el ABC se calculó utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = A - B/A \times 100$$

A = Media referencia para la enfermedad - media normales

B = Media tratados - media normales

Los cálculos de ED<sub>50</sub> se realizaron representando el % de inhibición frente al logaritmo natural de la concentración de dosis y generando una curva sigmoidea de respuesta a la dosis (pendiente variable). La dosis de concentración cero (grupo del vehículo) se incorporó a la gráfica asignándole un valor de dosis de 2 unidades logarítmicas inferior que la dosis más baja dada. Las restricciones de la curva se fijaron en 0 y 100%. Se utilizó un programa informático para generar una ecuación para la curva y se calculó la concentración a la que los animales mostrarían 50% de inhibición del parámetro (ED<sub>50</sub>).

Resultados. La disminución media del peso corporal a lo largo del tiempo (debida a la artritis) se inhibía en ratas tratadas VO con 0,1 mg/kg de MTX (días significativos 10-14), en comparación con ratas de referencia tratadas con vehículo. La pérdida media de peso corporal a lo largo del tiempo se incrementaba significativamente en ratas tratadas con 30 mg/kg de metaarsenito sódico (días 4, 8, 9), en comparación con las referencias con vehículo.

La inhibición de la pérdida de peso corporal desde el día cero era significativa para ratas tratadas con 0,1 mg/kg de MTX (91% de inhibición). La pérdida de peso corporal desde el día 0 no se inhibía significativamente (2-14%) mediante tratamiento con metaarsenito sódico (3, 10 y 30 mg/kg), en comparación con las referencias con vehículo.



Se observaba una inhibición significativa del incremento del diámetro del tobillo en ratas tratadas VO con 3 mg/kg de metaarsenito sódico (día significativo 9), 10 mg/kg de metaarsenito sódico (días significativos 8-14), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (días significativos 8-14) y 0,1 mg/kg de MTX (días significativos 8-14), en comparación con las referencias con vehículo.

- 5 Se observaba una inhibición significativa y sensible a la dosis del incremento de la ABC del diámetro del tobillo en ratas tratadas VO con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (46% de inhibición), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (83% de inhibición) y 0,1 mg/kg de MTX (96% de inhibición), en comparación con las referencias con vehículo. ED<sub>50</sub> calculada para metaarsenito sódico = 10,62 mg/kg,

- 10 El incremento del peso final de la pata debido a la artritis se inhibía significativamente y con sensibilidad a la dosis en animales tratados VO con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (28% de inhibición), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (83% de inhibición) y 0,1 mg/kg de MTX (99% de inhibición), en comparación con las referencias con vehículo. ED<sub>50</sub> calculada para metaarsenito sódico = 14,21 mg/kg.

- 15 Los pesos relativos del bazo (incrementados debido a inflamación y hematopoyesis extramedular potenciada) se reducían significativamente y de forma sensible a la dosis hacia los normales en ratas tratadas VO con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (50% de reducción), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (91% de reducción) y 0,01 mg/kg de MTX (77% de reducción), en comparación con las referencias con vehículo.

Los pesos relativos del hígado se reducían significativamente hacia los normales en ratas tratadas con MTX (100% de reducción). Los pesos relativos del hígado no se reducían significativamente (7-29%) mediante el tratamiento con metaarsenito sódico (3, 10 y 30 mg/kg).

- 20 La reabsorción ósea histopatológica era inhibida significativamente y de forma sensible a la dosis en ratas tratadas VO con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (59% de inhibición), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (81% de inhibición) y 0,1 mg/kg de MTX (100% de inhibición), en comparación con las referencias con vehículo. ED<sub>50</sub> calculada para metaarsenito sódico = 9,243 mg/kg,

- 25 Se observó una inhibición significativa y sensible a la dosis de la inflamación histopatológica en comparación con las referencias con vehículo en ratas tratadas VO con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (24% de inhibición), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (76% de inhibición) y 0,1 mg/kg de MTX (99% de inhibición). ED<sub>50</sub> calculada para metaarsenito sódico = 17,25 mg/kg.

- 30 Las medidas de los tobillos (dorsal a ventral) eran inhibidas significativamente y de forma sensible a la dosis mediante tratamiento con 10 mg/kg de metaarsenito sódico (36% de inhibición), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (81% de inhibición) y 0,1 mg/kg de MTX (97% de inhibición), en comparación con las referencias con vehículo. ED<sub>50</sub> calculada para metaarsenito sódico = 13,65 mg/kg,

- 35 La inflamación esplénica y la atrofia linfoide eran inhibidas significativamente y de forma sensible a la dosis en ratas que recibían 10 mg/kg de metaarsenito sódico (32% y 29% de inhibición, respectivamente), 30 mg/kg de metaarsenito sódico (89% y 39% de inhibición, respectivamente) y 0,1 mg/kg de MTX (100% y 50% de inhibición, respectivamente), en comparación con las referencias con vehículo.

- 40 Los resultados de este estudio indican que el tratamiento oral (VO) con 10 mg/kg (cada día) o 30 mg/kg (cada 2 días) de metaarsenito sódico inhibe eficazmente y de forma sensible a la dosis los cambios clínicos e histopatológicos asociados con el desarrollo de artritis por adyuvante. Una dosis diaria de 30 mg/kg de metaarsenito sódico era tóxica (basado en cambios en el peso corporal), pero la dosificación un día sí y uno no durante la fase activa de la enfermedad era bien tolerada y los pesos corporales se siguieron a continuación con las referencias para la enfermedad desde el día 10 hasta la terminación del estudio.

#### Ejemplo 6. Tratamiento de osteolisis inducida por tumores con metaarsenito sódico

- 45 En este estudio, se evaluó una posible terapia para el tratamiento de la osteolisis ósea inducida por tumores, metaarsenito sódico, utilizando un modelo singeneico de cáncer de huesos en ratas. En resumen, la línea celular de carcinoma de glándula mamaria de rata, MRMT-1, se inyectó en el espacio medular de la tibia proximal el Día 1 y los animales fueron dosificados mediante una sonda oral con metaarsenito sódico como vehículo una vez al día desde los Días 1-14. Se utilizó morfina como un artículo de referencia y se dosificó justo antes de la prueba conductual. A la conclusión del período experimental, las tibias izquierdas se extirparon para la confirmación radiográfica de la osteolisis tumoral. Las radiografías se utilizaron para seleccionar dos huesos representativos de cada grupo para la exploración micro-CT. Todas las muestras óseas se descalcificaron para el teñido con TRAP y la evaluación de la actividad osteoclástica (superficies de reabsorción) y para la determinación histopatológica de la estructura ósea y la carga tumoral. La eficacia del metaarsenito sódico se basaba en una comparación con el grupo inoculado con tumor tratado con vehículo.

- 55 Los resultados histopatológicos mostraban que a un nivel de dosis de 10 mg/kg el metaarsenito sódico demostraba una tendencia positiva a la mejora de diversos aspectos de daño óseo inducido por cáncer. Los datos muestran que en 10 mg/kg, el metaarsenito sódico tenía una fuerte tendencia positiva hacia la mejora de los osteoclastos y la

osteolisis inducidos por tumores. Los datos se muestran en la Figura 1.

Ejemplo 7. Perfil farmacocinético del metaarsenito sódico, después de la administración oral e I.V.

5 Se determinaron los perfiles farmacocinéticos plasmáticos y cerebrales después de la administración oral (VO) e intravenosa (IV) de metaarsenito sódico en ratones CD-1 macho. Setenta ratones albinos CD-1 (ICR) macho (aproximadamente cuatro semanas de edad, 18-27 g al empezar la prueba) fueron asignados aleatoriamente a los grupos de tratamiento. Los animales se mantuvieron en ayunas durante dos horas antes de la administración del fármaco de prueba. Los animales se trataron con 10 mg/kg (VO) o 5 mg/kg (IV), con un volumen de dosis elegido de 10 ml/kg. Después de la administración, se obtuvieron muestras de sangre (de 0,2 a 0,3 ml) a través de la vena cava bajo anestesia con isoflurano a los 5, 15, 30, 60, 120, 240, 480, 1.440, 1.920, 2.880, 3.360 y 4.320 minutos después de la dosis. Inmediatamente después de cada extracción de sangre, los animales fueron sacrificados y el cerebro se extirpó a los 5, 30, 60, 120, 240, 480, 1440, 2880 y 4320 minutos después de la dosis.

15 Las muestras de plasma y cerebro entero se digirieron con ácido nítrico concentrado en una bomba de Teflon a 105°C. El digerido se diluyó hasta 40 ml para el análisis mediante ICP-MS. El digerido se aspiró en el plasma acoplado inductivamente y los iones resultantes se extrajeron mediante una interfaz de vacío a un analizador de masas cuadrupolar. La cantidad de arsénico en las muestras se midió mediante comparación de la respuesta a una solución estándar de masa 75. Se analizaron NRCC-DOLT-3 y DORM-2 como materiales de referencia estándar.

Se analizaron los datos frente a la concentración de la muestra de estudio para generar los siguientes parámetros FC mediante análisis no compartimental (WinNonlin, versión 2.1):

Parámetro	Unidades	Notas
T <sub>máx</sub>	Hora	Tiempo para alcanzar la concentración máxima
C <sub>máx</sub>	ng/ml	Concentración superior dentro del espacio de tiempo
ABC <sub>total</sub>	ng.h/ml	Área bajo la curva, generada por el método trapezoidal de logarítmico lineal para la interpolación
F%	%	Biodisponibilidad de animales dosificados oralmente

Los resultados se indican en las tablas siguientes:

20

Resultados FC en plasma: Metaarsenito sódico (VO, 10 mg/kg)

Parámetro Farmacocinético (FC)	Unidades	Resultados FC (N=3)
ABC <sub>total</sub>	mg*h/kg	6,85
C <sub>máx</sub>	mg/kg	0,52
T <sub>máx</sub>	h	4
F%	%	101%
El análisis farmacocinético se completaba utilizando el valor medio (N=3) de la concentración en cada momento de la extracción.		

Resultados FC en Plasma: Metaarsenito Sódico (IV, 5 mg/kg)

Parámetro Farmacocinético (FC)	Unidades	Resultados FC (N=3)
ABC <sub>total</sub>	mg*h/kg	3,38
C <sub>máx</sub>	mg/kg	0,41
T <sub>máx</sub>	h	0,25
F%	%	N/A
El análisis farmacocinético se completaba utilizando el valor medio (N=3) de la concentración en cada momento de la extracción.		
N/A: No aplicable		

## ES 2 460 868 T3

### Resultados FC en el Cerebro: Metaarsenito sódico (VO, 10 mg/kg)

Parámetro Farmacocinético (FC)	Unidades	Resultados FC {N=3}
$ABC_{total}$	mg*h/kg	6,73
$C_{máx}$	mg/kg	0,33
$T_{máx}$	h	8
F%	%	87%
El análisis farmacocinético se completaba utilizando el valor medio (N=3) de la concentración en cada momento de la extracción.		

### Resultados FC en el Cerebro: Metaarsenito sódico (IV, 5 mg/kg)

Parámetro Farmacocinético (FC)	Unidades	Resultados FC (N=3)
$ABC_{total}$	mg*h/kg	3,86
$C_{máx}$	mg/kg	0,32
$T_{máx}$	h	4
F%	%	N/A
El análisis farmacocinético se completaba utilizando el valor medio (N=3) de la concentración en cada momento de la extracción.		
N/A: No aplicable		

**REIVINDICACIONES**

1. Metaarsenito sódico formulado para la administración oral para la utilización en el tratamiento del dolor en un mamífero, en donde dicho dolor es dolor provocado por apoplejía, dolor posquirúrgico, osteoartritis, dolor vertebral, lesión muscular, dolor perioperatorio, dismenorrea, dolor asociado con angina, dolor provocado por una enfermedad infecciosa o enfermedades autoinmunitarias.
- 5 2. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 1, en donde el dolor es dolor visceral, dolor agudo, dolor crónico o dolor central.
3. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 1, en donde el dolor está provocado por neuralgia herpética.
- 10 4. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 1, en donde la cantidad de dosificación de metaarsenito sódico es de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 70 mg/kg.
5. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 1, en donde la cantidad de dosificación de metaarsenito sódico es de aproximadamente 10 mg/kg a aproximadamente 30 mg/kg.
- 15 6. Metaarsenito sódico formulado para la administración oral para la utilización en el tratamiento de la inflamación en un mamífero, en donde la inflamación está asociada con un trastorno autoinmunitario o un trastorno mediado inmunológicamente, asma, enfermedad pulmonar o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
7. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 6, en donde la inflamación está asociada con artritis, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn o colitis ulcerativa.
- 20 8. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 7, en donde la enfermedad autoinmunitaria es lupus o artritis reumatoide.
9. Metaarsenito sódico para la utilización según la reivindicación 6, en donde el trastorno autoinmunitario o el trastorno mediado inmunológicamente es diabetes tipo I, vasculopatía diabética, neuropatía diabética, retinopatía diabética o síntomas diabéticos asociados con insulinitis.
10. Metaarsenito sódico para la utilización en el tratamiento del rechazo de tejidos u órganos en un mamífero.
- 25 11. Un estuche que comprende al menos una cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz de metaarsenito sódico formulado para la administración oral y al menos una cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz de un agente para el tratamiento del dolor, en donde dicho agente para el tratamiento del dolor no es un compuesto de arsénico.
- 30 12. Un estuche que comprende al menos una cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz de metaarsenito sódico formulado para la administración oral y al menos una cantidad de dosificación terapéuticamente eficaz de un agente antiinflamatorio, en donde dicho agente antiinflamatorio no es un compuesto de arsénico.

### Efecto de SMA sobre Puntuaciones Patológicas Individuales

