

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 555 172**

51 Int. Cl.:

**A61K 38/07** (2006.01)

**A61K 38/17** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.07.2008 E 08772390 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2015 EP 2175873**

54 Título: **Péptidos inhibidores de receptores NMDA para uso en en tratamiento de trastornos de la ansiedad**

30 Prioridad:

**03.07.2007 US 947892 P**

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

**29.12.2015**

73 Titular/es:

**NONO INC. (100.0%)  
88 Strath Avenue  
Toronto ON M8X 1R5, CA**

72 Inventor/es:

**TASKER, ANDREW;  
DOUCETTE, TRACY;  
TYMIANSKI, MICHAEL;  
MENDOZA, KENNETH;  
BELMARES, MICHAEL P.;  
GARMAN, DAVID y  
LU, PETER S.**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 555 172 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

Péptidos inhibidores de receptores NMDA para uso en en tratamiento de trastornos de la ansiedad

**Referencia cruzada a una solicitud relacionada**

La presente solicitud reivindica el beneficio del documento USSN 60/947.892 presentado el 3 de julio de 2007.

5 **Referencia a un "listado de secuencias", una tabla o un listado informático presentados en un formato legible informáticamente**

El Listado de Secuencias escrito en el archivo 026372000210PC\_SeqList.txt tiene 40.504 bites, y fue creado el 30 de junio de 2008, para la solicitud presentada con el mismo, Tasker et al. "TREATMENT FOR ANXIETY".

**Antecedentes de la invención**

10 La ansiedad y la depresión son trastornos psiquiátricos importantes de trascendencia clínica y socioeconómica significativa. La depresión clínica se presenta generalmente junto con trastornos de ansiedad, y viceversa. Raramente un paciente presenta síntomas sólo de una u otra.

15 En la población general, estos trastornos afectan al comportamiento diario y se correlacionan con el control de impulsos, comportamientos financieros, drogodependencia y organización. La ansiedad es un estado desagradable que implica una compleja combinación de emociones que incluyen miedo, aprensión y preocupación. A menudo, está acompañada por sensaciones físicas tales como palpitaciones cardíacas, náuseas, dolor torácico, disnea o cefalea tensional. El trastorno de ansiedad es un término general que cubre varias formas diferentes de ansiedad patológica anormal, miedos, fobias y estados nerviosos que pueden aparecer repentinamente (ansiedad aguda) y/o gradualmente a lo largo de un período de varios años (crónica), y puede dificultar o impedir la realización de los  
20 hábitos diarios normales. A menudo, los trastornos de ansiedad son afecciones clínicas debilitantes, que se pueden presentar desde una edad temprana o empezar repentinamente después de un suceso desencadenante. Tienden a exacerbarse en momentos de mucho estrés.

25 Se describe a menudo que la ansiedad tiene componentes cognitivos, somáticos, emocionales y conductuales (Seligman, Walker & Rosenhan, 2001). El componente cognitivo implica la expectativa de un peligro difuso e incierto. Somáticamente, el cuerpo prepara al organismo para hacer frente a una amenaza (conocido como una reacción de emergencia): la presión sanguínea y la frecuencia cardíaca se incrementan, la sudoración se incrementa, el flujo sanguíneo a los grupos de músculos principales se incrementa y las funciones de los sistemas inmunitario y digestivo se inhiben. Externamente, signos somáticos de ansiedad pueden incluir palidez, sudoración, temblores y dilatación de las pupilas. Emocionalmente, la ansiedad provoca un sentido de pavor o pánico y físicamente provoca náuseas y escalofríos. Conductualmente, pueden surgir conductas tanto voluntarias como involuntarias dirigidas a escapar de o evitar la fuente de la ansiedad. Estas conductas son frecuentes y a menudo inadaptadas, siendo más extremas en los trastornos de ansiedad. Sin embargo, la ansiedad no siempre es patológica o inadaptada: es una emoción común junto con el miedo, la ira, la tristeza y la felicidad, y tiene una función importante en relación con la supervivencia.

35 Se cree que los circuitos neurales que implican al núcleo amigdalino y el hipocampo subyacen a la ansiedad (Rosen & Schulkin, Psychol. Rev., 105(2):325-350, 1998). Cuando se confrontan con estímulos desagradables y potencialmente peligrosos tales como malos olores o sabores, las exploraciones por PET muestran un incremento del flujo sanguíneo en el núcleo amigdalino (Zald & Pardo, PNAS, 94(8):4119-4124, 1997; Zald, Hagen & Pardo, J. Neurophysiol., 87(2):1068-1075, 2002). En estos estudios, los participantes también mostraron una ansiedad moderada. Esto podría indicar que la ansiedad es un mecanismo protector diseñado para evitar que el organismo se implique en conductas potencialmente peligrosas.

Tratamientos convencionales para la ansiedad incluyen terapia conductual, cambios en el estilo de vida y/o terapia farmacéutica (medicaciones). Se sabe que la mayoría de los fármacos usados para tratar estos trastornos tienen efectos secundarios negativos que pueden limitar su uso, o provocar habituación o dependencia.

45 La proteína de densidad postsináptica 95 (PSD-95) se acopla a NMDAR hasta rutas que median en la excitotoxicidad y el daño cerebral isquémico (Aarts et al., Science 298, 846-850 (2002)). Este acoplamiento fue roto por neuronas transductoras con péptidos que se unen a dominios modulares en cualquier lado del complejo de interacción PSD-95/NMDAR. Esta señalización del NMDAR aguas abajo atenuada por el tratamiento sin bloquear la actividad del NMDAR protegía a neuronas corticales cultivadas de lesiones excitotóxicas y reducía el volumen del infarto cerebral en ratas sometidas a isquemia cerebral focal transitoria. Este resultado ha conducido a proponer el  
50 uso de antagonistas peptídicos de PSD-95/NMDAR para tratar la apoplejía y otras enfermedades mediadas por excitotoxicidad. No se han observado efectos secundarios significativos en experimentos en fase I de uno de tales antagonistas.

55 El documento WO2007/079406 de Arbor Vita Corporation divulga inhibidores peptídicos de PSD que se unen a un receptor de NMDA para el uso en el tratamiento de la isquemia, la apoplejía, la enfermedad de Parkinson, la

enfermedad de Huntington, la enfermedad de Alzheimer, la epilepsia o las ataxias. El Ejemplo 3 divulga un péptido para el uso en el tratamiento de la isquemia cerebral. No hay ninguna divulgación del tratamiento de la ansiedad.

5 Según la presente invención, se proporciona un agente que inhibe la unión específica de PSD95 a un receptor de NMDA para el uso para tratar o efectuar la profilaxis en un paciente que tiene o está en riesgo de desarrollar síntomas de ansiedad, comprendiendo el agente un péptido activo que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID N°: 1).

#### Breve compendio de la invención reivindicada

10 Preferiblemente, el péptido activo comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en ESDV (SEQ ID N°: 2), ESEV (SEQ ID N°: 3), ETDV (SEQ ID N°: 4), ETEV (SEQ ID N°: 5), DTDV (SEQ ID N°: 6), DTEV (SEQ ID N°: 7). El agente según la reivindicación 1, en donde el agente es un péptido quimérico que comprende un péptido activo que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 3-25 aminoácidos del extremo C de un receptor de NMDA o un dominio PDZ 1 y/o 2 de un receptor de PSD-95 ligado a un péptido de internalización.

15 Preferiblemente, (a) el péptido activo tiene una secuencia de aminoácidos que comprende KLSSIETDV (SEQ ID N°: 8) o (b) el péptido activo tiene una secuencia de aminoácidos que comprende KLSSIESDV (SEQ ID N°: 10).

20 Opcionalmente, el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que comprende YGRKKRRQRRRKLSSIETDV (SEQ ID N°: 9). Opcionalmente, el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en YGRKKRRQRRRKLSSIETDV (SEQ ID N°: 9). Opcionalmente, el péptido activo tiene una secuencia de aminoácidos que comprende KLSSIESDV (SEQ ID N°: 10). Opcionalmente, el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que comprende YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEQ ID N°: 11). Opcionalmente, la secuencia de aminoácidos consiste en YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEQ ID N°: 11).

25 Opcionalmente, el paciente está libre de enfermedades distintas a la ansiedad que requieran tratamiento con el antagonista. Opcionalmente, el paciente está libre de enfermedades distintas a la ansiedad mediadas por excitotoxicidad. Opcionalmente, el paciente está libre de apoplejía. Opcionalmente, el paciente está libre de enfermedades mediadas por excitotoxicidad. Opcionalmente, el agente se administra en respuesta a que el paciente haya experimentado un suceso que promueve la ansiedad. Opcionalmente, el paciente tiene un episodio de ansiedad aguda. Opcionalmente, el paciente está experimentando un trastorno de pánico. Opcionalmente, el paciente tiene un trastorno fóbico y está siendo expuesto o está cerca de ser expuesto a la fobia. Opcionalmente, el paciente tiene un trastorno de ansiedad social y está siendo expuesto o está cerca de ser expuesto a una situación social que desencadenaría el trastorno. Opcionalmente, el paciente tiene un trastorno obsesivo-compulsivo y está mostrando síntomas del trastorno. Opcionalmente, el paciente tiene sensaciones físicas de ansiedad. Opcionalmente, las sensaciones físicas comprenden palpitaciones cardíacas, náuseas, dolor torácico, disnea y/o cefalea tensional.

35 Opcionalmente, el paciente tiene síndrome de estrés postraumático. Opcionalmente, el paciente tiene ansiedad por separación. Opcionalmente, el agente se administra en respuesta a que el paciente experimente ansiedad acerca de un suceso futuro. Opcionalmente, el régimen eficaz se administra en respuesta a un diagnóstico de ansiedad en el paciente. Opcionalmente, el método comprende además administrar un segundo régimen eficaz para tratar o efectuar la profilaxis de la ansiedad. Opcionalmente, el segundo régimen comprende administrar un segundo agente. Opcionalmente, el segundo régimen comprende administrar terapia conversacional. En algunos métodos, el paciente es un ser humano. Opcionalmente, el agente se administra mediante infusión intravenosa o subcutáneamente. Opcionalmente, el régimen eficaz se administra después del diagnóstico de un síntoma de ansiedad en el paciente para aliviar el síntoma o detener o inhibir el desarrollo adicional del síntoma. Opcionalmente, el agente se administra junto con un portador farmacéuticamente aceptable como una composición farmacéutica.

45 Algunos métodos comprenden además controlar al paciente para determinar los efectos del tratamiento sobre un síntoma y/o signo de ansiedad. Opcionalmente, el péptido quimérico se administra en una dosis de 0,05 a 500 mg, opcionalmente de 0,1 a 100 mg, de 0,5 a 50 mg o 1-20 mg.

50 La invención proporciona además una composición farmacéutica para la profilaxis o el tratamiento de síntomas de ansiedad en un paciente que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un agente como el definido anteriormente. Opcionalmente, la composición farmacéutica tiene una etiqueta que indica la idoneidad para tratar o efectuar la profilaxis de síntomas de ansiedad.

La invención proporciona además el uso de un agente como el definido anteriormente en la fabricación de un medicamento para tratar o efectuar la profilaxis de la ansiedad.

55 La presente divulgación proporciona métodos para tratar o efectuar la profilaxis de síntomas de ansiedad en un paciente que sufre o tiene riesgo de ansiedad que comprende administrar al paciente un régimen eficaz de un péptido tSXV ligado a un péptido de internalización.

### Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 muestra la puntuación de habituación media ( $\pm$  EEM) durante la prueba del laberinto en cruz elevado.

La Figura 2 muestra la puntuación de habituación media ( $\pm$  EEM) durante la prueba de campo abierto.

### Definiciones

- 5 Un "polipéptido quimérico" se refiere a un polipéptido compuesto, es decir, una única secuencia de aminoácidos contigua, constituida por dos (o más) polipéptidos heterólogos distintos que normalmente no están fusionados entre sí en una única secuencia de aminoácidos.
- El término "dominio PDZ" se refiere a un dominio de proteína modular de aproximadamente 90 aminoácidos, caracterizado por una identidad de secuencias significativa (p. ej., al menos 60%) con la proteína sináptica cerebral PSD-95, la proteína de ligazón de *Drosophila* septate Discs-Large (DLG) y la proteína de ligazón estrecha epitelial ZO1 (ZO1). Los dominios PDZ también se conocen como repeticiones de homología Discs-Large ("DHR") y repeticiones GLGF. Generalmente, los dominios PDZ parecen mantener una secuencia de consenso central (Doyle, D. A., 1996, *Cell* 85: 1067-76). Proteínas que contienen dominios PDZ y secuencias de dominios PDZ ejemplares se divulgan en el documento US 2006-0148711 A1.
- 10 El término "proteína PL" o "proteína de ligando PDZ" se refiere a una proteína natural que forma un complejo molecular con un dominio PDZ, o a una proteína cuyo extremo carboxi, cuando se expresa separadamente de la proteína de longitud completa (p. ej., como un fragmento de péptido de 3-25 residuos, p. ej. 3, 4, 5, 8, 10, 12, 14 o 16 residuos), forma tal complejo molecular. El complejo molecular se puede observar *in vitro* usando el "Ensayo A" o el "Ensayo G" descritos, p. ej., en el documento US 2006-0148711 A1 o *in vivo*.
- 15 Un "motivo PL" se refiere a la secuencia de aminoácidos del extremo C de una proteína PL (p. ej., los 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 20 o 25 residuos C-terminales o residuos contiguos) ("residuos de PL C-terminales") o a una secuencia interna que se sabe que se une a un dominio PDZ ("secuencia PL interna").
- Un "péptido PL" es un péptido que comprende o que consiste en, o se basa de otro modo en, un motivo PL que se une específicamente a un dominio PDZ.
- 20 El término "receptor de NMDA" o "NMDAR" se refiere a una proteína asociada a la membrana que se sabe que interactúa con NMDA. El término incluye así las diversas formas subunitarias descritas en la solicitud. Tales receptores pueden ser humanos o no humanos (p. ej., ratón, rata, conejo, mono).
- Los términos "aislado" o "purificado" significan que la especie objetivo (p. ej., un péptido) se ha purificado de contaminantes que están presentes en una muestra, tal como una muestra obtenida de fuentes naturales que
- 30 contienen la especie objetivo. Si una especie objetivo está aislada o purificada, es la especie macromolecular (p. ej., polipéptido) predominante en una muestra (es decir, sobre una base molar, es más abundante que cualquier otra especie individual de la composición), y preferiblemente la especie objetivo comprende al menos aproximadamente 50 por ciento (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. Generalmente, una composición aislada, purificada o sustancialmente pura comprende más de 80 a 90 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en una composición. Lo más preferiblemente, la especie objetivo se purifica hasta
- 35 homogeneidad esencial (es decir, no se pueden detectar especies contaminantes en la composición mediante métodos de detección convencionales), en donde la composición consiste esencialmente en una única especie macromolecular.
- Un "peptidomimético" se refiere a un compuesto químico sintético que tiene sustancialmente las mismas características estructurales y/o funcionales de un péptido de la invención. El peptidomimético puede contener análogos no naturales totalmente sintéticos de aminoácidos, o es una molécula quimérica de aminoácidos de péptidos parcialmente naturales y análogos parcialmente no naturales de aminoácidos. El peptidomimético también puede incorporar cualquier cantidad de sustituciones conservativas de aminoácidos naturales con tal de que tales sustituciones no alteren sustancialmente la estructura y/o la actividad inhibitoria o de unión del mimético. Las
- 40 composiciones de miméticos de polipéptidos pueden contener cualquier combinación de componentes estructurales no naturales, que típicamente son de tres grupos estructurales: a) grupos de ligazón de residuos distintos a las ligazones con enlaces amida naturales ("enlaces peptídicos"); b) residuos no naturales en lugar de los residuos de aminoácido naturales; o c) residuos que inducen mimetismo estructural secundario, es decir, para inducir o estabilizar una estructura secundaria, p. ej., una conformación de giro  $\beta$ , giro  $\gamma$ , hoja  $\beta$ , hélice  $\alpha$  y similares.
- 45 El término "unión específica" se refiere a la unión entre dos moléculas, por ejemplo, un ligando y un receptor, caracterizada por la capacidad de una molécula (ligando) para asociarse con otra molécula específica (receptor) incluso en presencia de muchas otras moléculas diversas, es decir, mostrar unión preferente de una molécula a otra en una mezcla heterogénea de moléculas. La unión específica de un ligando a un receptor también se evidencia por una reducción de la unión de un ligando marcado detectablemente al receptor en presencia de exceso de ligando por
- 50 marcado (es decir, un ensayo de unión competitiva).
- 55

Estadísticamente significativo se refiere a un valor de p que es  $< 0,05$ , preferiblemente  $< 0,01$  y lo más preferiblemente  $< 0,001$ .

"Paciente" se refiere a seres humanos, animales domésticos (p. ej., gatos, perros), animales de granja (p. ej., pollos, vacas, ovejas, caballos, cerdos) y animales de laboratorio (p. ej., ratas, ratones).

- 5 El término anticuerpo se usa para incluir anticuerpos intactos y sus fragmentos de unión. Típicamente, los fragmentos compiten con el anticuerpo intacto del que se derivaban y con otros anticuerpos para la unión específica a un antígeno.

10 El término "agente" se usa para describir un compuesto que tiene o puede tener una actividad farmacológica. Agentes incluyen compuestos que son fármacos conocidos, compuestos para los que se ha identificado una actividad farmacológica pero que están siendo sometidos a una evaluación terapéutica adicional y compuestos que son miembros de colecciones y bibliotecas que se van a cribar con respecto a una actividad farmacológica. El término incluye un producto químico orgánico o inorgánico tal como un péptido, incluyendo anticuerpos, proteínas y moléculas pequeñas (menos de 500 D) y productos naturales.

15 El término "síntoma" o "síntoma clínico" se refiere a una evidencia subjetiva de una enfermedad, tal como una sensación de náuseas, que es percibida por el paciente. Un "signo" se refiere a una evidencia objetiva de una enfermedad que es observada por un médico, tal como presión sanguínea elevada. Los síntomas y los signos no son necesariamente mutuamente exclusivos.

### Descripción detallada de la invención

#### I. General

20 La invención proporciona agentes útiles para tratar o efectuar la profilaxis de síntomas de ansiedad. La invención se basa en parte en los resultados descritos en los ejemplos en los que se encontró que un antagonista de la unión específica de PSD95 a NMDAR 2B reducía la ansiedad en un modelo de este trastorno en ratas. La ansiedad difiere de otras enfermedades en que se ha propuesto que tales antagonistas serían útiles, ya que se sabe que la ansiedad no es el resultado de excitotoxicidad. Aunque no se requiere una comprensión del mecanismo para la práctica de la invención, se cree que tales agentes de la invención actúan al menos en parte al inhibir la interacción entre NMDAR (particularmente NAR2A, 2B, 2C y D) con proteína de densidad postsináptica 95 (es decir, inhibidores de PSD-95). Los agentes también pueden inhibir interacciones entre PSD-95 y nNOS (GenBank NM\_008712). Los agentes también pueden inhibir interacciones de miembros de la familia de PSD95 SAP102 (Muller, Neuron 17, 255-265 (1996)), SAP97 (GenBank NM\_007862) y PSD93 (GenBank NM\_0011807), así como la proteína TIP1 que contiene PDZ (GenBank NM\_029564). Como resultado de una o más de tales inhibiciones, se cree que los agentes inhiben la neurotransmisión excitadora mediada por NDMA en el SNC, y signos y/o síntomas de ansiedad resultantes de tal transmisión. Aunque los métodos de la invención se pueden usar para cualquier forma de ansiedad, son particularmente útiles para episodios de ansiedad agudos, tales como ataques de pánico, que a menudo son el resultado de un suceso desencadenante que se ha producido o se espera que se produzca inminentemente.

35 Se ha presentado previamente que los agentes usados en los presentes métodos son útiles para tratar la apoplejía y se han sometido a experimentos clínicos en fase I para esta indicación sin efectos adversos graves. Las dosificaciones y los regímenes usados para tratar la apoplejía también se pueden usar para la ansiedad, particularmente episodios agudos de ansiedad. Formas más crónicas de ansiedad pueden requerir la administración de agentes durante un período más prolongado.

#### 40 II. Agentes

Los agentes incluyen péptidos quiméricos y peptidomiméticos que tienen al menos dos componentes. El primer componente es un péptido activo que tiene una secuencia de aminoácidos que incluye o se basa en el motivo PL de un receptor de NMDA (es decir, un péptido PL) o un dominio PDZ de PSD95. Los péptidos activos útiles en la invención inhiben la interacción entre los dominios PDZ 1 y 2 de la proteína de densidad postsináptica 95 (PSD-95) (secuencia de aminoácidos humana proporcionada por Stathakism, Genomics 44(1):71-82 (1997)) y la secuencia PL C-terminal de una o más subunidades del receptor 2 de NMDA incluyendo la subunidad NR2B del receptor de N-metil-D-aspartato neuronal (Mandich et al., Genomics 22, 216-8 (1994)). El NMDAR2B tiene una ID del GenBank 4099612, 20 aminoácidos C-terminales FNGSSNGHVYEKLSIESDV (SEQ ID N°: 12) y un motivo PL ESDV (SEQ ID N°: 2). Preferiblemente, los péptidos activos inhiben las formas humanas de PSD-95 y receptores NMDAR humanos. Sin embargo, también se puede mostrar la inhibición de variantes de especies de las proteínas. Una lista de receptores de NMDA y glutamato que se pueden usar aparecen posteriormente:

TABLA 1: RECEPTORES DE NMDA CON SECUENCIAS PL

Nombre	G1 o Nº Reg.	Secuencia 20mera C-terminal	Secuencia 4mera C-terminal	PL ?	ID de PL interna
NMDAR1	307302	HPTDITGPLNLS DPSVSTVV (SEQ ID Nº: 13)	STVV (SEQ ID Nº: 27)	X	AA216
NMDAR1-1	292282	HPTDITGPLNLS DPSVSTVV (SEQ ID Nº: 13)	STVV (SEQ ID Nº: 27)	X	AA216
NMDAR1-4	472845	HPTDITGPLNLS DPSVSTVV (SEQ ID Nº: 13)	STVV (SEQ ID Nº: 27)	X	AA216
NMDAR1-3b	2343286	HPTDITGPLNLS DPSVSTVV (SEQ ID Nº: 13)	STVV (SEQ ID Nº: 27)	X	AA216
NMDAR1-4b	2343288	HPTDITGPLNLS DPSVSTVV (SEQ ID Nº: 13)	STVV (SEQ ID Nº: 27)	X	AA216
NMDAR1-2	11038634	RRAIEREEGQLQLCSRHRES (SEQ ID Nº: 14)	HRES (SEQ ID Nº: 28)		
NMDAR1-3	11038636	RRAIEREEGQLQLCSRHRES (SEQ ID Nº: 14)	HRES (SEQ ID Nº: 28)		
NMDAR2C	6006004	TQGFPGPCTWRRISSESEV (SEQ ID Nº: 15)	ESEV (SEQ ID Nº: 3)	X	AA180
NMDAR3	560546	FNGSSNGHVYEKLSSIESDV (SEQ ID Nº: 12)	ESDV (SEQ ID Nº: 2)	X	AA34.1
NMDAR3A	17530176	AVSRKTELEEYQRTSRTCES (SEQ ID Nº: 16)	TCES (SEQ ID Nº: )		
NMDAR2B	4099612	FNGSSNGHVYEKLSSIESDV (SEQ ID Nº: 12)	ESDV (SEQ ID Nº: 29)	X	
NMDAR2A	558748	LNSCSNRRVYKMP SIESDV (SEQ ID Nº: 17)	ESEV (SEQ ID Nº: 2)	X	AA34.2
NMDAR2D	4504130	GGDLGTRRGS AHFSSLESEV (SEQ ID Nº: 18)	ESEV (SEQ ID Nº: 2)	X	
Receptor de glutamato $\delta$ 2	AF009014	QPTPTLGLNLGN DPDRGTSI (SEQ ID Nº: 19)	GTSI (SEQ ID Nº: 30)	X	
Receptor de glutamato 1	128953	MQSIPCMSSHSGMPLGATGL (SEQ ID Nº: 20)	ATGL SEQ ID Nº: 31)	X	
Receptor de glutamato 2	L20814	QNFATYKEGYNVYGIESVKI (SEQ ID Nº: 21)	SVKI (SEQ ID Nº: 32)	X	
Receptor de glutamato 3	AF167332	QNYATYREGYNVYGTESVKI (SEQ ID Nº: 22)	SVKI (SEQ ID Nº: 32)	X	
Receptor de glutamato 4	U16129	HTGTAIRQSSGLAVIASDLP (SEQ ID Nº: 23)	SDLP (SEQ ID Nº: 33)		
Receptor de glutamato 5	U16125	SFTSILTCHQRRTQRKETVA (SEQ ID Nº: 24)	ETVA (SEQ ID Nº: 34)	X	
Receptor de glutamato 6	U16126	EVINMHTFNDRRLPGKETMA (SEQ ID Nº: 25)	ETMA (SEQ ID Nº: 35)	X	
Receptor de glutamato 7	U16127	RRLPGKDSMACSTSLAPVFP (SEQ ID Nº: 26)	PVFP (SEQ ID Nº: 36)		

5 Algunos péptidos activos inhiben interacciones entre PSD-95 y múltiples subunidades de NMDAR. En tales casos, el uso del péptido no requiere necesariamente una comprensión de las contribuciones respectivas de los diferentes NMDAR a la neurotransmisión excitadora. Otros péptidos activos son específicos para un único NMDAR.

Los péptidos activos incluyen o se basan en un motivo PL del extremo C de cualquiera de las subunidades anteriores y tienen una secuencia de aminoácidos que comprende [S/T]-X-[V/L]. Esta secuencia se presenta preferiblemente en el extremo C de los péptidos de la invención. Los péptidos preferidos tienen una secuencia de

aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID N°: 1) en su extremo C. Péptidos ejemplares comprenden: ESDV (SEQ ID N°: 2), ESEV (SEQ ID N°: 3), ETDV (SEQ ID N°: 4), ETEV (SEQ ID N°: 5), DTDV (SEQ ID N°: 6) y DTEV (SEQ ID N°: 7) como los aminoácidos C-terminales. Dos péptidos particularmente preferidos son KLSSIESDV (SEQ ID N°: 10) y KLSSIETDV (SEQ ID N°: 8). Los péptidos de la invención sin un péptido de internalización tienen habitualmente 3-25 aminoácidos, longitudes del péptido (también sin un péptido de internalización) de 5-10 aminoácidos, y particularmente se prefieren 9 aminoácidos. En algunos de estos péptidos activos, todos los aminoácidos son del extremo C de un receptor de NMDA.

Otros péptidos activos incluyen el dominio PDZ 1 y/o 2 de PSD-95 o un subfragmento de cualquiera de estos que inhiba interacciones entre PSD-95 y un receptor de NMDA, tal como NMDA 2B. Estos péptidos activos comprenden al menos 50, 60, 70, 80 o 90 aminoácidos del dominio de PDZ 1 y/o el dominio de PDZ 2 de PSD-95, que se presentan dentro de aproximadamente los aminoácidos 65-248 de PSD-95 proporcionados por Stathakism, Genomics 44(1):71-82 (1997) (secuencia humana) o NP\_031890.1, GI:6681195 (secuencia de ratón) o regiones correspondientes de otras variantes de especies.

Cualquiera de los péptidos de la invención se puede ligar, preferiblemente en su extremo N, a un péptido de internalización que facilita la translocación a través de la membrana plasmática de una célula. Ejemplos de estos péptidos incluyen tat derivado de HIV (Vives et al., 1997, *J Biol. Chem.* 272: 16010; Nagahara et al., 1998, *Nat. Med.* 4: 1449), antenapedia de *Drosophila* (Derossi et al., 1994, *J Biol. Chem.* 261: 10444), VP22 del virus del herpes simple (Elliot y O'Hare, 1997, *Cell* 88:223-233), regiones determinantes de la complementariedad (CDR) 2 y 3 de anticuerpos anti-DNA (Avrameas et al., 1998, *Proc. Natl Acad. Sci. U.S.A.*, 95:5601-5606), proteína de choque térmico de 70 KDa (Fujihara, 1999, *EMBO J* 18:411-419) y transportano (Pooga et al., 1998, *FASEB J.* 12:67-77). Por ejemplo, se puede usar el péptido de internalización TAT de HIV YGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 37). Dos péptidos preferidos que incluyen este péptido de internalización Tat de HIV y un péptido activo son **YGRKKRRQRRRKLSSIESDV** (SEQ ID N°: 9, Tat-NR2B9C<sub>(TDV)</sub>) e **YGRKKRRQRRRKLSSIESDV** (SEQ ID N°: 11, Tat-NR2B9C<sub>(SDV)</sub>).

También se pueden usar variantes de la secuencia de tat estándar YGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 37). La solicitud en tramitación junto con la presente 60/904507, presentada el 03/02/2007, presenta que el péptido tat estándar se une a e inhibe canales del calcio de tipo N, unión que puede conducir a una variedad de efectos secundarios. Aunque la práctica de la invención no depende de una comprensión del mecanismo, se cree que tanto la capacidad para cruzar las membranas como la unión a canales del calcio de tipo N de tat son conferidas por la presencia inusualmente alta de residuos cargados positivamente Y, R y K en el péptido. Los péptidos variantes para el uso en la invención deben retener la capacidad para facilitar la absorción en células pero deben tener una capacidad reducida para unirse a canales del calcio de tipo N. Algunos péptidos de internalización adecuados comprenden o consisten en una secuencia de aminoácidos XGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 38), en la que X es un aminoácido distinto de Y o nada (en cuyo caso G es un residuo N-terminal libre). Una variante de tat preferida tiene el residuo Y N-terminal sustituido por F. Así, se prefiere una variante de tat que comprende o que consiste en FGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 39). Otro péptido de internalización tat variante preferido consiste en GRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 40). Si están presentes residuos adicionales que flanquean XGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 38) (además del péptido activo), los residuos pueden ser, por ejemplo, aminoácidos naturales que flanquean este segmento desde una proteína tat, aminoácidos espaciadores o ligadores de un tipo usado típicamente para empalmar dos dominios peptídicos, p. ej., gly (ser), (SEQ ID N°: 41), T G E K P (SEQ ID N°: 42), GRRGGGS (SEQ ID N°: 43) o LRQRDGERP (SEQ ID N°: 44) (véase, p. ej., Tang et al. (1996), *J. Biol. Chem.* 271,15682-15686; Hennecke et al. (1998), *Protein Eng.* 11, 405-410)), o pueden ser cualesquiera otros aminoácidos que no reduzcan detectablemente la capacidad para conferir absorción de la variante sin los residuos de flanqueo y no incrementen significativamente la inhibición de canales del calcio de tipo N con relación a la variante sin los residuos de flanqueo. Preferiblemente, el número de aminoácidos de flanqueo distintos al péptido activo no supera diez en cada lado de XGRKKRRQRRR (SEQ ID N°: 38). Preferiblemente, no están presentes aminoácidos de flanqueo, y el péptido de internalización está ligado en su extremo C directamente a un péptido activo.

Otras variantes de tat que se pueden usar para permitir la absorción de cualquiera de los péptidos activos de la invención para la inhibición de interacciones de PSD-95 sin inhibir los canales del calcio de tipo N incluyen los presentados en la in Tabla 2 posteriormente. Se recomienda que estos péptidos de internalización se criben para confirmar la absorción y la falta de inhibición de canales del calcio de tipo N deseadas. Se predice en la presente memoria que estas secuencias mantienen la capacidad de transporte sin inhibir canales del calcio de tipo N y así permiten un mayor índice terapéutico para el tratamiento de la ansiedad.

TABLA 2

	SEQ ID N°
X-FGRKKRRQRRRKLSSIESDV (F-TatNR2B9c)	45, 64, 65, 66
X-GKKKKKQKKKLLSSIESDV	46, 67, 68, 69
X-RKKRRQRRRKLSSIESDV	47, 70, 71, 72
X-GAKKRRQRRRKLSSIESDV	48, 73, 74, 75
X-AKKRRQRRRKLSSIESDV	49, 76, 77, 78
X-GRKARRQRRRKLSSIESDV	50, 79, 80, 81
X-RKARRQRRRKLSSIESDV	51, 82, 83, 84
X-GRKKARQRRRKLSSIESDV	52, 85, 86, 87
X-RKKARQRRRKLSSIESDV	53, 88, 89, 90
X-GRKKRRQARRKLSSIESDV	54, 91, 92, 93
X-RKKRRQARRKLSSIESDV	55, 94, 95, 96
X-GRKKRRQRARKLSSIESDV	56, 97, 98, 99
X-RKKRRQRARKLSSIESDV	57, 100, 101, 102
X-RRPRRPRRPRRKLSSIESDV	58, 103, 104, 105
X-RRARRARRARRKLSSIESDV	59, 106, 107, 108
X-RRRARRRARRKLSSIESDV	60, 109, 110, 111
X-RRRPRRPRRKLSSIESDV	61, 112, 113, 114
X-RRPRRPRRKLSSIESDV	62, 115, 116, 117
X-RRARRARRKLSSIESDV	63, 118, 119, 120

5 X puede representar un extremo amino libre, una molécula de biotina u otro resto de terminación incluyendo, pero no limitados a, H, acetilo, benzoilo, un grupo alquilo (alifático), piroglutamato, un grupo alquilo con un grupo cicloalquilo en el extremo, biotina con un espaciador alquilo, (5,6)-FAM. El acoplamiento químico del grupo de terminación al péptido N-terminal puede ser a través de una química de amida, una química de sulfamida, una química de sulfona, una química de alquilación. Además, X también puede ser un aminoácido distinto de tirosina.

10 Habitualmente, los péptidos de internalización están ligados a péptidos activos como péptidos de fusión, pero también pueden estar ligados mediante una ligazón química. El acoplamiento de los dos constituyentes se puede efectuar a través de un agente de acoplamiento o conjugación. Muchos de estos agentes están disponibles comercialmente y son revisados por S. S. Wong, Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking, CRC Press (1991). Algunos ejemplos de reactivos de reticulación incluyen 3-(2-piridilditio)propionato de N-succinimidilo (SPDP) o N,N'-(1,3-fenilen)bismaleimida; N,N'-etilen-bis-(yodoacetamida) u otro de estos reactivos que tenga de 6 a 11 puentes de carbono-metileno (que son relativamente específicos para grupos sulfhidrilo); y 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno (que forma ligazones irreversibles con grupos amino y tirosina). Otros reactivos de reticulación incluyen p,p'-difluoro-m,m-dinitrodifenilsulfona (que forma reticulaciones irreversibles con grupos amino y fenólicos); adipimidato de dimetilo (que es específico para grupos amino); cloruro de fenol-1,4-disulfonilo (que reacciona principalmente con grupos amino); diisocianato o diisotiocianato de hexametileno, o p-diisocianato de azofenilo (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con diversas cadenas laterales diferentes) y disdiazobencinida (que reacciona principalmente con tirosina e histidina).

25 Péptidos tales como los que se acaban de describir opcionalmente se pueden derivar (p. ej., acetilar, fosforilar y/o glicosilar) para mejorar la afinidad de unión del inhibidor, para mejorar la capacidad del inhibidor para ser transportado a través de una membrana celular o para mejorar la estabilidad. Como un ejemplo específico, para inhibidores en los que el tercer residuo del extremo C es S o T, este residuo se puede fosforilar antes del uso del péptido.

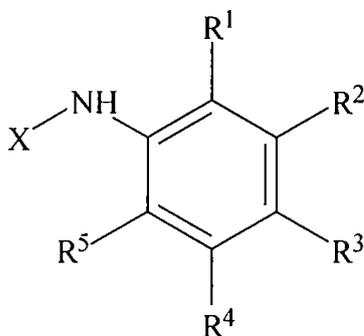
Los péptidos de la invención, opcionalmente fusionados con dominios de internalización, se pueden sintetizar mediante síntesis en fase sólida o métodos recombinantes. Los peptidomiméticos se pueden sintetizar usando una variedad de procedimientos y metodologías descritos en la bibliografía específica y de patentes, p. ej., Organic Syntheses Collective Volumes, Gilman et al. (Eds) John Wiley & Sons, Inc., NY, al-Obeidi (1998) *Mol. Biotechnol.* 9:205-223; Hruby (1997) *Curr. Opin. Chem. Biol.* 1:114-119; Ostergaard (1997) *Mol. Divers.* 3: 17-27; Ostresh (1996) *Methods Enzymol.* 267:220-234.

Los péptidos de la invención sin un péptido de internalización tienen habitualmente 3-25 aminoácidos, longitudes del péptido (también sin un péptido de internalización) de 5-10 aminoácidos, y particularmente se prefieren 9 aminoácidos.

La actividad farmacológica apropiada de los péptidos o peptidomiméticos se puede confirmar, si se desea, usando el modelo en animales descrito en los Ejemplos. Opcionalmente, los péptidos o peptidomiméticos también se pueden cribar con respecto a la capacidad para inhibir interacciones entre PSD-95 y NMDAR 2B usando ensayos descritos, p. ej., en el documento US 20050059597, que se incorpora mediante referencia. Los péptidos útiles tienen valores de  $IC_{50}$  de menos de 50  $\mu$ M, 25  $\mu$ M, 10  $\mu$ M, 0,1  $\mu$ M o 0,01  $\mu$ M en este ensayo. Los péptidos preferidos tienen típicamente un valor de  $IC_{50}$  de entre 0,001-1  $\mu$ M, y más preferiblemente 0,05-0,5 o 0,05 a 0,1  $\mu$ M

Péptidos como los que se acaban de describir se pueden derivar (p. ej., acetilar, fosforilar y/o glicosilar) opcionalmente para mejorar la afinidad de unión del inhibidor, para mejorar la capacidad del inhibidor para ser transportado a través de una membrana celular o para mejorar la estabilidad. Como un ejemplo específico, para inhibidores en los que el tercer residuo de extremo C es S o T, este residuo se puede fosforilar antes del uso del péptido.

Los agentes también pueden incluir moléculas pequeñas que inhiben interacciones entre PSD95 y NMDAR 2B y/u otras interacciones descritas anteriormente. Inhibidores de molécula pequeña adecuados se describen en la Solicitud internacional en tramitación junto con la presente N° PCT/US2006/062715, que fue presentada el 29 de diciembre de 2005. Estas moléculas se identificaron mediante cribado en sílice de una biblioteca de compuestos con respecto a la unión a PSD95, y la unión de compuestos ejemplares se verificó experimentalmente. Compuestos adecuados incluyen compuestos que tienen la estructura general de P<sub>0</sub>-A-B-C-D-E, donde D y E son opcionales, y P<sub>0</sub> es:



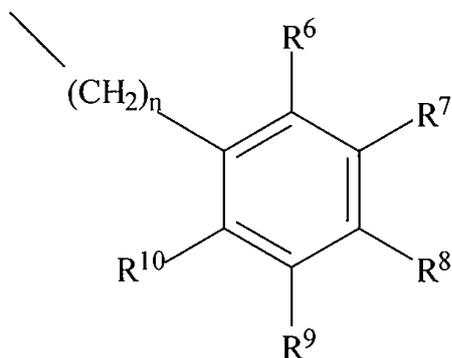
en donde uno de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es -COOH, y en donde el resto de R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> se seleccionan del grupo que consiste en F, H, OCH<sub>3</sub> y CH<sub>3</sub>; y X es -A-B-C-D-E, en donde A, B, C, D y E están conectados a través de enlaces sencillos y

A se selecciona del grupo que consiste en C=O, NH, SO<sub>2</sub> y (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>, en donde

m = 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

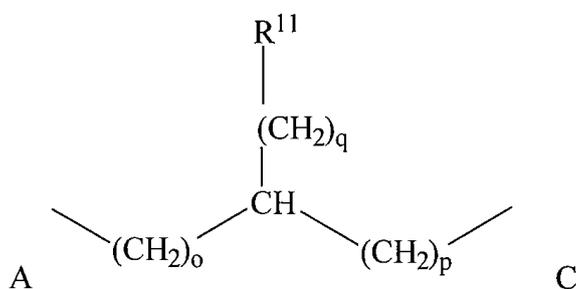
B es:

-OCH<sub>2</sub>, C=O,



en donde uno de  $R^6$ - $R^{10}$  está unido a -C-D-E, y en donde el resto de  $R^6$ - $R^{10}$  se seleccionan del grupo de H, OH, F, Cl, Br, I,  $CH_3$ ,  $CH_2CH_3$  y  $OCH_3$ , y  $n = 0$  o  $1$ ; o

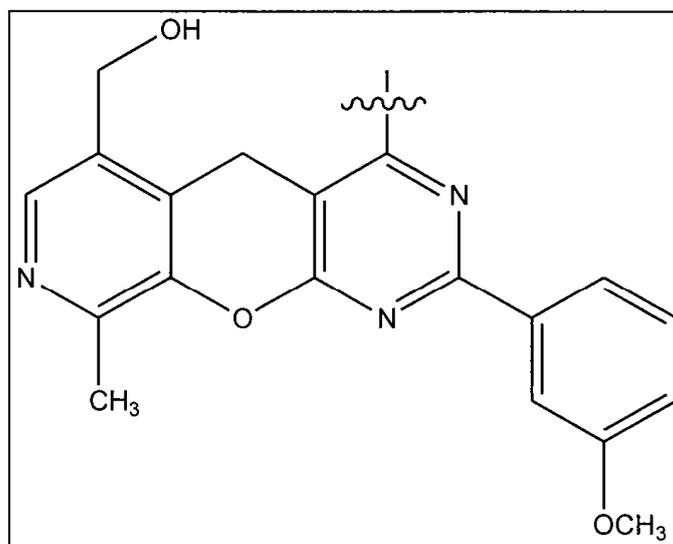
un sistema anular seleccionado del grupo que consiste en cicloalquilo o heterociclo saturado o insaturado; o

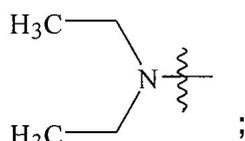
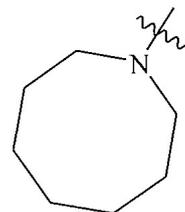
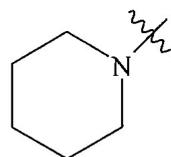
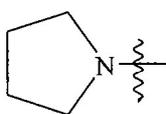
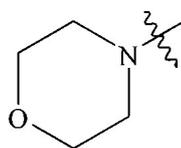
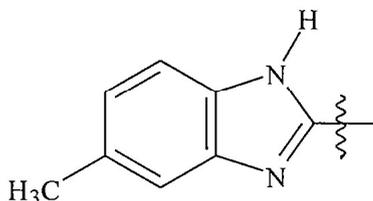
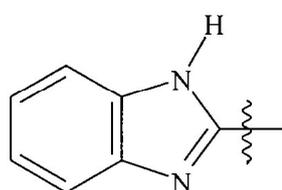
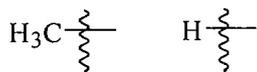


5 en donde  $o$  y  $p = 0$  o  $1$ ,  $q = 0, 1, 2, 3$  o  $4$ , y  $R^{11}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo inferior sustituido o no sustituido, amida, tioéter, fenilo, fenol, indol, imidazol,  $NH(NH_2)(N^+H_2)$ ,  $COOH$ ,  $SH$ ,  $OH$  o  $H$ ;

C se selecciona del grupo que consiste en -O-, C=O, NH, CONH, S, ftalamida,  $CH_3$ , H,  $SO_2$  y  $(CH_2)_r$ , en donde  $r = 0, 1, 2, 3, 4$  o  $5$ ;

10 D es opcional y cuando C no es terminal, D se selecciona del grupo que consiste en -CN-, C=O, NH, S, O,  $SO_2$ ,  $(CH_2)_s$ , en donde  $s = 0, 1, 2, 3, 4$  o  $5$ , y  $(CH_2)_t-OH$ , en donde  $t = 0, 1, 2, 3, 4$  o  $5$ , y

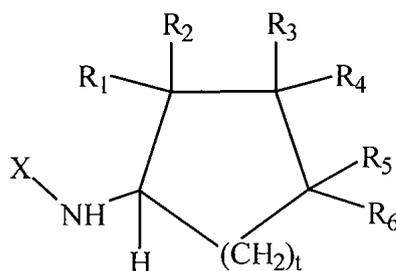




y

- E es opcional y cuando D no es terminal, E es ciclohexilo o fenilo, cualquiera sustituido con alquilo inferior, alcoxi inferior, cetona, OH, COOH, nitroso, indolina sustituida en N, o un péptido de traslocación de la membrana celular; o
- 5  $-(\text{CH}_2)_u-(\text{CHR}^{12}\text{R}^{13})$ , en donde  $u = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16$  o  $17$  y  $\text{R}^{12}$  y  $\text{R}^{13}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, OH, ciclohexano, ciclopentano, fenilo, fenilo sustituido, ciclopentadieno; o alquilo inferior ramificado incluyendo isopropilo, isobutilo, 1-isopropil-2-metil-butilo, 1-etil-propilo; o
- 10  $-\text{NH}-\text{COR}^{14}$ , en donde  $\text{R}^{14}$  es  $(\text{CR}^{15}\text{R}^{16})_v$ , en donde  $v = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16$  o  $17$  y  $\text{R}^{15}$  y  $\text{R}^{16}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, ciclohexano, fenilo y un péptido de traslocación de la membrana celular.

Alternativamente,  $\text{P}_0$  es:

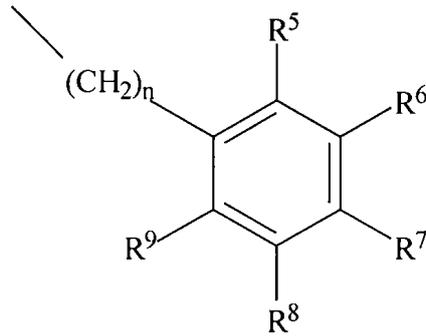


- en donde  $t = 0, 1$  o  $2$ , cualquiera de  $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$  o  $\text{R}^6$  son COOH, y el resto de  $\text{R}^1, \text{R}^2, \text{R}^3, \text{R}^4, \text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  se seleccionan del grupo que consiste en H,  $\text{CH}_3$ , F y  $\text{OCH}_3$ , y X es -A-B-C-D-E, en donde A, B, C, D y E están conectados a través de enlaces sencillos y
- 15

A se selecciona del grupo que consiste en  $\text{C}=\text{O}$ ,  $\text{SO}_2$ , NH y  $(\text{CH}_2)_m$ , en donde  $m = 0, 1, 2, 3, 4$  o  $5$ ;

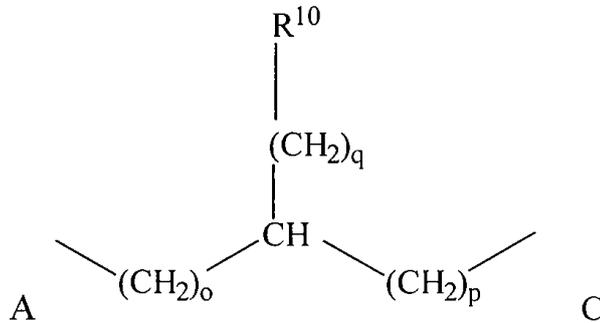
B es:

$-\text{OCH}_2-$ ,  $\text{C}=\text{O}$ ; o



en donde uno de R<sup>5</sup>-R<sup>9</sup> está unido a -C-D-E, y en donde el resto de R<sup>5</sup>-R<sup>9</sup> se seleccionan del grupo de H, OH, F, Cl, Br, I, CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> y OCH<sub>3</sub>, y n = 0 o 1; o

un sistema anular seleccionado del grupo que consiste en cicloalquilo o heterociclo saturado o insaturado; o

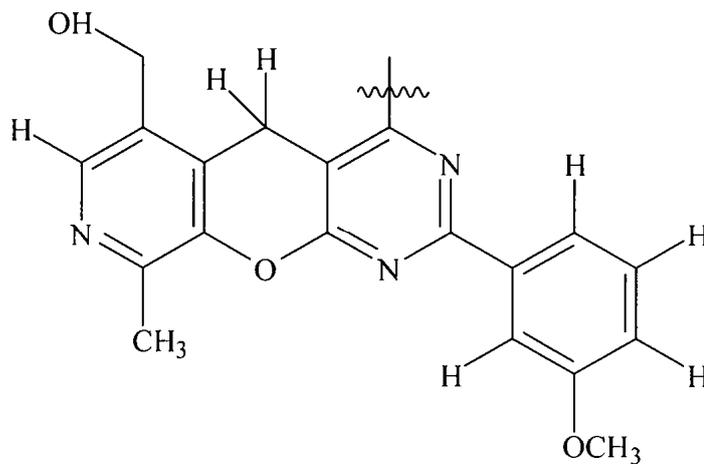


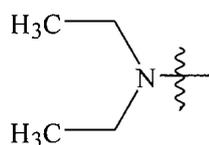
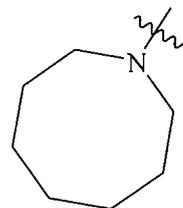
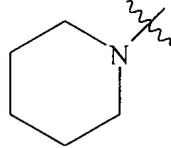
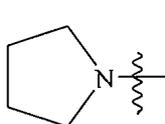
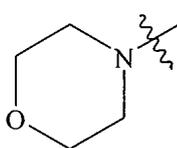
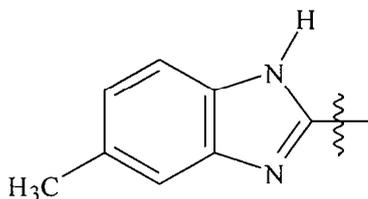
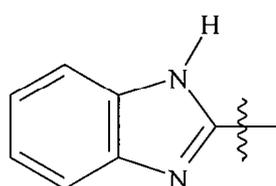
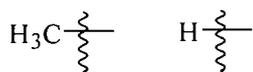
5

en donde o y p = 0 o 1, y R<sup>10</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo sustituido o no sustituido, amida, tioéter, fenilo, fenol, indol, imidazol, NH(NH<sub>2</sub>)(N(+))H<sub>2</sub>, COOH, SH, OH o H;

C se selecciona del grupo que consiste en C=O, NH, S, ftalamida, -O-, CH<sub>3</sub>, H, SO<sub>2</sub> y (CH<sub>2</sub>)<sub>r</sub>, en donde r = 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

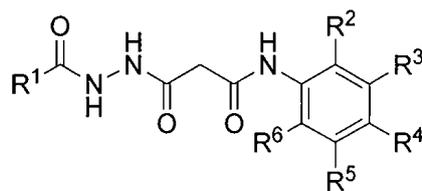
10 D es opcional y cuando C no es terminal, D se selecciona del grupo que consiste en C=O, -CN-, NH, S, O, SO<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>s</sub>, en donde s = 0, 1, 2, 3, 4 o 5, y





- 5 E es fenilo o ciclohexilo, cualquiera sustituido con alquilo inferior, alcoxi inferior, cetona, OH, COOH, nitroso, indolina sustituida en N; o  $-(CHR^{11}R^{12})_u$ , en donde  $u = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16$  o  $17$  y  $R^{11}$  y  $R^{12}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, OH, ciclohexano, ciclopentano, fenilo, fenilo sustituido, ciclopentadieno; o alquilo inferior ramificado incluyendo isopropilo, isobutilo, 1-isopropil-2-metil-butilo, 1-etil-propilo; o  $-NH-COR^{11}$ , en donde  $R^{11}$  es  $(CHR^{12}R^{13})_s$ , en donde  $s = 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16$  o  $17$  y  $R^{12}$  y  $R^{13}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en H, ciclohexano, fenilo y un péptido de traslocación de la membrana celular.

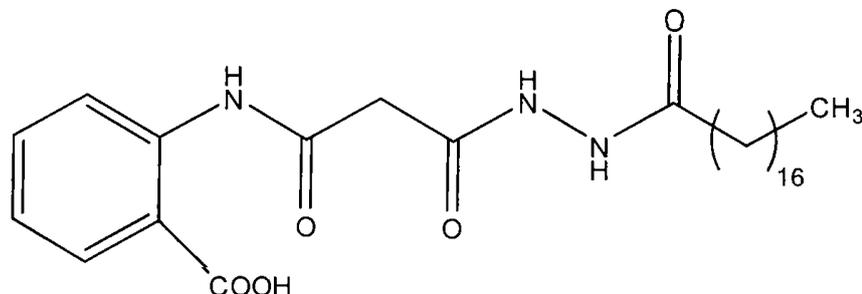
Algunos compuestos preferidos tienen la siguiente estructura:



- 10 en donde  $R^1$  es un miembro seleccionado del grupo que consiste en ciclohexilo sustituido con 0-4  $R^7$ , fenilo sustituido con 0-4  $R^7$ ,  $-(CH_2)_u-(CHR^8R^9)$ , un alquilo  $C_{1-6}$  ramificado (isopropilo, isobutilo, 1-isopropil-2-metil-butilo, 1-etil-propilo) y  $-NH-C(O)-(CR^{10}R^{11})_vH$ ;
- 15 cada  $R^7$  es independientemente un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ ,  $-C(O)R^{12}$ , OH, COOH,  $-NO$ , indolina sustituida en N y un péptido de traslocación de la membrana celular
- cada  $R^8$  y  $R^9$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, OH, ciclohexano, ciclopentano, fenilo, fenilo sustituido (por ejemplo, sustituido con grupos halo, alquilo y/o hidroxilo) y ciclopentadieno;
- cada  $R^{10}$  y  $R^{11}$  se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, ciclohexano, fenilo y un péptido de traslocación de la membrana celular;
- 20  $R^{12}$  es un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-6}$  y arilo; y
- cada uno de  $u$  y  $v$  son independientemente de 0 a 20;
- en donde uno de  $R^2, R^3, R^4, R^5$  y  $R^6$  es  $-COOH$ , y en donde el resto de  $R^2, R^3, R^4, R^5$  y  $R^6$  se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en F, H,  $OCH_3$  y  $CH_3$ .

En una realización,  $R^1$  es  $-(CH_2)_n-(CHR^8R^9)$ . En otra realización,  $R^1$  es un miembro del grupo definido anteriormente de sustituyentes  $R^1$  distintos de  $-(CH_2)_n-(CHR^8R^9)$ .

Un agente preferido tiene la siguiente estructura



5 Otros compuestos se pueden cribar de moléculas naturales o sintéticas. Los agentes que se van a cribar también se pueden obtener de fuentes naturales, tales como, p. ej., microorganismos marinos, algas, plantas, hongos. Bibliotecas aleatorias de péptidos u otros compuestos también se pueden cribar con respecto a la unión a PSD95 y la capacidad para inhibir interacciones de PSD95 con los NMDAR y/o las moléculas descritas en la sección 1 anteriormente. Se pueden producir bibliotecas combinatorias para muchos tipos de compuestos que se pueden sintetizar por etapas. Tales compuestos incluyen polipéptidos, miméticos de giro  $\beta$ , polisacáridos, fosfolípidos, hormonas, prostaglandinas, esteroides, compuestos aromáticos, compuestos heterocíclicos, benzodiazepinas, glicinas sustituidas en N oligómeras y oligocarbamatos. Se pueden construir grandes bibliotecas combinatorias de los compuestos mediante el método de bibliotecas sintéticas codificadas (ESL) descrito en Affymax, documento WO 95/12608, Affymax, documento WO 93/06121, Columbia University, documento WO 94/08051, Farmacopea, documento WO 95/35503, y Scripps, documento WO 95/30642.

También se pueden generar bibliotecas de péptidos mediante métodos de presentación de fagos. Véase, p. ej., Devlin, documento WO 91118980. Avímeros que constituyen multímeros de dominios A se pueden usar de un modo similar a los anticuerpos (Silverman et al. Nat. Biotechnol. 23, 1493-4 (2005)). Los compuestos con las propiedades de unión e inhibitoras descritas anteriormente se pueden cribar adicionalmente en un modelo de ansiedad en animales. Opcionalmente, cualquiera de los compuestos anteriores se mezcla con un excipiente farmacéutico como una composición farmacéutica.

### III. Ansiedad

A menos que sea evidente otra cosa a partir del contexto, una referencia a la ansiedad incluye cualquiera de las formas de ansiedad definidas en the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4ª edición (DSM-IV-TR) y/o posteriormente. Muchos de los subtipos de ansiedad se caracterizan por episodios agudos (es decir, períodos relativamente cortos de síntomas y signos de enfermedad relativamente numerosos y/o intensos separados por intervalos relativamente prolongados de menos síntomas y signos o menos intensos, si los hay). A menudo, los episodios agudos son desencadenados por un suceso específico que se ha producido o se espera que se produzca inminentemente. La ansiedad y sus subtipos se diagnostican habitualmente al aplicar un cuestionario para determinar si los pacientes cumplen los criterios de DSM-IV-TR.

#### Trastorno de ansiedad generalizada

El trastorno de ansiedad generalizada es un trastorno crónico común que afecta dos veces más a las mujeres que a los hombres y puede conducir a un deterioro considerable (Brawman-Mintzer & Lydiard, J. Clin. Psychiatry, 57 (Supl. 7):3-8, 1996; Bull. Menninger Clin., 61 (2 supl. A):A66-A94, 1997; J. Clin. Psychiatry, 58 (supl. 3): 16-25, 1997). Como el nombre implica, el trastorno de ansiedad generalizada se caracteriza por ansiedad de larga duración que no se enfoca a ningún objeto o situación particular. En otras palabras, es inespecífico o libre. Las personas con este trastorno están asustadas por algo pero son incapaces de articular el miedo específico. Están inquietas constantemente y tienen dificultades para controlar sus preocupaciones. Debido a la tensión muscular persistente y las reacciones autónomas de miedo, pueden desarrollar cefaleas, palpitaciones cardíacas, mareos e insomnio. Estas dolencias físicas, combinadas con la intensa ansiedad a largo plazo, hacen difícil hacer frente a las actividades diarias normales.

#### Trastorno de pánico

En el trastorno de pánico, una persona sufre breves ataques de terror y aprensión intensos que provocan temblores y convulsiones, confusión, mareos, náuseas, dificultad respiratoria y sensaciones de desastre inminente o una situación que puede ser embarazosa. The American Psychiatric Association (2000) define un ataque de pánico como miedo o incomodidad que surge repentinamente y alcanza el máximo en 10 minutos o menos, y ocasionalmente puede durar horas.

Aunque los ataques de pánico a veces parecen producirse de la nada, generalmente ocurren después de experiencias aterradoras, estrés prolongado o incluso ejercicio. Muchas personas que tienen ataques de pánico (especialmente el primero) piensan que están teniendo un ataque cardíaco y a menudo terminan en el médico o en urgencias. Aunque las pruebas vuelvan a la normalidad, la persona seguirá preocupada, con las manifestaciones físicas de ansiedad reforzando su temor de que algo va mal con su cuerpo. El aumento de la consciencia (hipervigilancia) de cualquier cambio en la función normal del cuerpo humano será apreciado e interpretado como una posible enfermedad mortal por un individuo que sufre ataques de pánico.

Los cambios normales en los latidos del corazón, tales como cuando se sube un tramo de escaleras, serán apreciados por los que sufren pánico y les conducirán a pensar que algo va mal con su corazón o están cerca de sufrir otro ataque de pánico. Algunos empiezan a preocuparse excesivamente e incluso dejan el trabajo o se niegan a salir de casa para evitar ataques futuros. El trastorno de pánico se puede diagnosticar cuando varios ataques aparentemente espontáneos conducen a una preocupación persistente acerca de ataques futuros.

#### Agorafobia

Una complicación común del trastorno de pánico es la agorafobia – ansiedad acerca de estar en un lugar o una situación de donde es difícil o embarazoso escapar (Craske, 2000; Gorman, 2000). La definición de la palabra se ha extendido para referirse a conductas de evitación que a menudo desarrollan los enfermos. Si un enfermo de ataques de pánico parece tenerlos mientras conduce, por ejemplo, entonces puede evitar conducir, lo que alivia la ansiedad, y posteriormente hace más difícil la conducción futura, como resultado de un refuerzo conductual.

#### Fobias

Esta categoría implica un miedo y una evitación irracionales fuertes de un objeto o una situación. La persona sabe que el miedo es irracional, y sin embargo la ansiedad permanece. Los trastornos fóbicos difieren de los trastornos de ansiedad generalizada y los trastornos de pánico debido a que hay un estímulo o situación específico que provoca una fuerte respuesta de miedo. Una persona que sufre una fobia a las arañas se podría sentir tan asustada por una araña que trataría de saltar de un coche en marcha para huir de ella.

Las personas con fobias tienen imaginaciones especialmente poderosas, de modo que anticipan vívidamente las consecuencias terroríficas de encontrar objetos temidos tales como cuchillos, puentes, sangre, lugares cerrados, ciertos animales o situaciones. Estos individuos generalmente reconocen que sus miedos son excesivos e irracionales pero generalmente son incapaces de controlar la ansiedad.

#### Trastorno de ansiedad social

El trastorno de ansiedad social también se conoce como fobia social. Los individuos con este trastorno experimentan un miedo intenso de ser evaluados negativamente por otros o de ser puestos en un aprieto públicamente debido a actos impulsivos. Casi todos experimentan "miedo escénico" cuando hablan o actúan frente a un grupo. Puesto que ocasionalmente hay artistas con trastorno de ansiedad social que son capaces de actuar públicamente sin ansiedad significativa, su amor por la actuación y la práctica de su arte puede disminuir la ansiedad. Pero las personas con fobias sociales a menudo se ponen tan ansiosos que la actuación, si no son interpretes naturales, tales como niños que tocan instrumentos musicales desde pequeños, está fuera de cuestión. De hecho, el miedo al escrutinio público y la humillación potencial se hace tan generalizado que la vida normal se puede hacer imposible (den Boer 2000; Margolis & Swartz, 2001). Otra fobia social es la timidez amorosa, que afecta lo más adversamente a ciertos hombres. Los afectados se encuentran incapaces de iniciar relaciones adultas íntimas (Gilmartin 1987).

#### Trastorno obsesivo-compulsivo

El trastorno obsesivo-compulsivo es un tipo de trastorno de ansiedad caracterizado principalmente por obsesiones y/o compulsiones. Las obsesiones son pensamientos o imágenes angustiosos, repetitivos e intrusivos que el individuo a menudo percibe que no tienen sentido. Las compulsiones son conductas repetitivas que la persona se siente forzada u obligada a tener, a fin de aliviar la ansiedad. El patrón de pensamientos OCD se puede asemejar a las supersticiones: si se hace X, Y no va a suceder – a pesar de lo improbable que pueda ser que hacer X evite realmente Y, incluso si Y es una amenaza real en principio. Un ejemplo común de esta conducta sería obsesionarse con que una puerta está abierta, lo que puede conducir a la comprobación y recomprobación constante compulsiva de las puertas. A menudo, el proceso parece mucho menos lógico. Por ejemplo, la compulsión de caminar con un cierto patrón se puede emplear para aliviar la obsesión de que algo malo está cerca de ocurrir. Las luces y otros elementos domésticos también son objetos comunes de obsesión.

#### Trastorno de estrés postraumático

El trastorno de estrés postraumático es un trastorno de ansiedad que resulta de una experiencia traumática, tal como estar implicado en una pelea, una violación, ser tomado como rehén o estar implicado en un accidente grave. El enfermo puede experimentar reviviscencias, conducta de evitación y otros síntomas. El trastorno de estrés postraumático (PTSD) es un término para ciertas consecuencias psicológicas graves de la exposición a o la confrontación con sucesos estresantes que la persona experimenta como muy traumáticos. Clínicamente, tales

sucesos implican una muerte real o amenaza de muerte, una lesión física grave o una amenaza a la integridad física y/o psicológica, hasta un grado que las defensas psicológicas habituales son incapaces de hacer frente a las repercusiones. Ocasionalmente, se llama reacción de estrés postraumático para enfatizar que es un resultado de una experiencia traumática más que una manifestación de una afección psicológica preexistente. La presencia de una respuesta de PTSD está influenciada por la intensidad de la experiencia, su duración y la persona individual implicada.

El PTSD se puede desencadenar por un factor o factores externos. Sus síntomas pueden incluir los siguientes: pesadillas, reviviscencias, desapego emocional o insensibilidad (automortificación o disociación emocional), insomnio, evitación de recuerdos y angustia extrema cuando hay exposición a los recuerdos ("desencadenantes"), pérdida de apetito, irritabilidad, hipervigilancia, pérdida de memoria (puede aparecer como dificultad para prestar atención), respuesta de sobresalto excesiva, depresión clínica y ansiedad. También es posible que una persona que sufre PTSD exhiba uno o más trastornos psiquiátricos comórbidos; estos trastornos a menudo incluyen depresión clínica (o trastorno bipolar), trastorno de ansiedad general y una variedad de adicciones.

Los síntomas que aparecen dentro del primer mes del trauma se denominan trastorno de estrés agudo, no PTSD según DSM-IV. Si no hay una mejora de los síntomas después de este período de tiempo, se diagnostica PTSD. El PTSD tiene tres subformas: El PTSD agudo remite después de una duración de tres meses. Si los síntomas persisten, el diagnóstico se cambia por PTSD crónico. La tercera subforma se denomina PTSD de inicio retardado que se puede presentar meses, años o incluso décadas después del suceso.

El PTSD apareció en primer lugar en the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM) en 1980. Los veteranos de guerra son las víctimas más reconocidas públicamente del PTSD; la enfermedad psiquiátrica de larga duración se observó primeramente en veteranos de la Primera Guerra Mundial. El PTSD ha sido reconocido como un problema para los grupos marginales dentro de la sociedad. Uno de tales grupos son los aborígenes australianos y otros pueblos indígenas de todo el mundo. En estos casos, los antecedentes repetidos de trauma en niños y adultos, la separación de los niños de sus familias, la violencia entre personas y el abuso de sustancias, y la muerte temprana, dan como resultado generaciones de personas con altos niveles de PTSD.

El PTSD normalmente se asocia con un trauma tal como crímenes violentos, violación y una experiencia bélica. Sin embargo, hay un número creciente de informes de PTSD entre supervivientes de cáncer y sus familiares (Smith 1999, Kangas 2002). La mayoría de los estudios tratan con supervivientes de cáncer de mama (Green 1998, Cordova 2000, Amir & Ramati, J. Anxiety Disord., 16(2): 195-206, 2002) y cáncer en niños y sus padres (Landolt 1998, Stuber 1998), y muestran números de prevalencia de entre cinco y 20%. Síntomas intrusivos y de evitación característicos se han descrito en pacientes con cáncer con recuerdos traumáticos de daño, tratamiento y muerte (Brewin 1998). Todavía hay desacuerdo sobre si los traumas asociados con diferentes sucesos estresantes relacionados con el diagnóstico y el tratamiento del cáncer realmente se califican como factores estresantes para el PTSD (Green 1998). El cáncer como trauma tiene múltiples facetas, incluye múltiples sucesos que pueden provocar angustia y, como la guerra, a menudo se caracteriza por una duración prolongada con un potencial de recaída y una inmediatez variable de amenaza para la vida (Smith 1999).

#### Ansiedad por separación

La ansiedad por separación afecta a niños en edad escolar que tienen dificultades para comprometerse socialmente o participar en ausencia de su cuidador principal. La ansiedad por separación se puede asemejar a la fobia escolar.

#### Ansiedad por exposición

La ansiedad por exposición fue descrita en primer lugar en el libro *Exposure Anxiety; The Invisible Cage* de la autora autista Donna Williams y se refería a la ansiedad asociada con sentir la propia existencia extremadamente difícil de soportar. Se describió que la ansiedad por exposición desencadena un estado autoprotector generalizado de respuestas involuntarias de evitación, desviación y desquite que dan como resultado un conflicto para hacer cosas 'como uno mismo', 'por uno mismo' o 'para uno mismo'. Al aprender a hacer cosas como 'no yo', los que la tienen a veces todavía podrían hacer cosas tomando otros caracteres, papeles y voces. La ansiedad por exposición se distinguió además del trastorno de personalidad evitativa, el trastorno de oposición desafiante y el síndrome de evitación de las demandas en el libro *The Jumbled Jigsaw*.

#### IV. Pacientes susceptibles de tratamiento

Pacientes susceptibles de tratamiento incluyen seres humanos que tienen ansiedad según se describe anteriormente y/o según se define por los criterios de the Diagnostic and Statistical Manual (2000) (DSM IV TR) (ISBN 0-89042-024-6).

Algunos de estos pacientes experimentan síntomas de bajo nivel crónicamente y otros experimentan episodios agudos de síntomas intensos separados por períodos en los que los síntomas están ausentes o muy reducidos. El tratamiento se puede administrar terapéuticamente mientras los síntomas están presentes o profilácticamente por adelantado al desarrollo anticipado de síntomas en pacientes que se considera que tienen alto riesgo de desarrollar síntomas, tales como, por ejemplo, pacientes cerca de sufrir un suceso que ha desencadenado un episodio de

ansiedad previamente. Los pacientes también incluyen modelos de ansiedad en animales de laboratorio, tal como se describe en los ejemplos, y animales domésticos y de granja que experimentan una ansiedad similar a la afección humana.

5 Aunque los métodos de la invención se pueden poner en práctica sobre cualquiera de las formas de ansiedad analizadas anteriormente, son más adecuados para formas que tienen episodios agudos, tales como trastornos de pánico, fobias, trastorno de ansiedad social, trastornos obsesivos-compulsivos, ansiedad por separación y trastorno posttraumático y otros trastornos agudos que tienen sensaciones físicas así como un malestar subjetivo. En tales trastornos, un paciente se puede tratar poco después del comienzo de un episodio agudo. En algunos trastornos, el paciente se puede tratar alternativamente o adicionalmente antes del comienzo de un episodio agudo que se espera que resulte de un suceso desencadenante. Por ejemplo, si un paciente con una fobia de un suceso futuro (p. ej., viajar en avión) se puede tratar antes de que el suceso futuro sea suficientemente inminente para que se desencadene el episodio de ansiedad.

15 Algunos pacientes tienen depresión comórbida con ansiedad. Los pacientes susceptibles de tratamiento pueden tener o no otras enfermedades o trastornos para los que previamente se ha propuesto el tratamiento con antagonistas de PSD95-NMDAR. Estas enfermedades y afecciones incluyen enfermedades mediadas por excitotoxicidad, apoplejía, epilepsia, hipoxia, lesión traumática en el SNC no asociada con apoplejía tal como lesión cerebral y lesión medular traumáticas, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. En pacientes en los que está presente tal enfermedad comórbida, los agentes de la invención pueden ser eficaces contra la ansiedad y la enfermedad comórbida.

## 20 VI. Métodos de tratamiento

Los agentes de la invención se usan para tratar a pacientes que sufren o tienen riesgo de desarrollar síntomas de ansiedad según se describe anteriormente. En formas de ansiedad que tienen episodios agudos, el tratamiento se inicia habitualmente bien antes de un suceso desencadenante que promueve el episodio o bien tan pronto como sea posible después del inicio del episodio. Si el tratamiento se administra después de que un episodio haya empezado, el tratamiento habitualmente se administra de una a seis horas después del inicio de un episodio de ansiedad. A menudo, es suficiente una sola dosis de un agente de la invención. Sin embargo, también se pueden administrar múltiples dosis a intervalos de 6-24 h.

La respuesta del paciente al tratamiento se puede controlar al determinar signos y síntomas de ansiedad y sus subtipos según los criterios del DSM-IV-TR.

30 Los métodos de la invención se pueden combinar con tratamientos convencionales para la ansiedad. Estos tratamientos convencionales incluyen terapia conductual, cambios en el estilo de vida y/o terapia farmacéutica. El tratamiento principal para la ansiedad consiste en la prescripción de agentes ansiolíticos y/o antidepresivos y/o remisión a un terapeuta cognitivo-conductual (p. ej., terapia conversacional). Fármacos convencionales incluyen benzodiacepinas (tales como xanax) y antidepresivos de la mayoría de las clases principales (SSRI, TCA, MAOI) y quetiapina.

## 35 VII. Composiciones farmacéuticas, dosificaciones y vías de administración

Los péptidos y peptidomiméticos de la invención se pueden administrar en la forma de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se fabrican bajo condiciones GMP (prácticas adecuadas de fabricación). Las composiciones farmacéuticas se pueden proporcionar en forma de dosificación unitaria (es decir, la dosificación para una sola administración) que contiene cualquiera de las dosificaciones indicadas anteriormente. Las composiciones farmacéuticas se pueden fabricar por medio de procedimientos de mezclado, disolución, granulación, formación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, compresión o liofilización. En particular, los péptidos o peptidomiméticos de la invención liofilizados se pueden usar en las formulaciones y composiciones descritas posteriormente.

45 Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de modo convencional usando uno o más portadores, diluyentes, excipientes o adyuvantes fisiológicamente aceptables que faciliten el procesamiento de péptidos o peptidomiméticos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente. Una formulación apropiada depende de la vía de administración elegida.

La administración puede ser parenteral, intravenosa, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneal, intratecal, intraperitoneal, tópica, intranasal o intramuscular. Se prefiere la administración intravenosa.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral son preferiblemente estériles y sustancialmente isotónicas. Para inyección, los péptidos o peptidomiméticos se pueden formular en soluciones acuosas, preferiblemente en tampones fisiológicamente compatibles tales como solución de Hanks, solución de Ringer o solución salina fisiológica o tampón de acetato (para reducir las molestias en el punto de inyección). La solución puede contener agentes formuladores tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes.

Alternativamente, los péptidos o peptidomiméticos pueden estar en forma de polvo para la constitución con un

vehículo adecuado, p. ej., agua estéril libre de pirógenos, antes del uso.

Para la administración transmucosa, se usan en la formulación penetrantes apropiados para la barrera que se va a atravesar. Esta vía de administración se puede usar para aportar los compuestos a la cavidad nasal o para la administración sublingual.

- 5 Para la administración oral, los compuestos se pueden formular al combinar los péptidos o peptidomiméticos con portadores farmacéuticamente aceptables como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, lechadas, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente que se va a tratar. Para formulaciones sólidas orales tales como, por ejemplo, polvos, cápsulas y comprimidos, excipientes adecuados incluyen cargas tales como azúcares, tales como lactosa, sacarosa, manitol y sorbitol; preparaciones de celulosa tales como almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma de tragacanto, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y/o polivinilpirrolidona (PVP); agentes de granulación y agentes aglutinantes. Si se desea, se pueden añadir agentes desintegrantes, tales como la polivinilpirrolidona reticulada, agar o ácido algínico o una de sus sales tal como alginato sódico. Si se desea, las formas de dosificación sólidas se pueden revestir con azúcar o revestir entéricamente usando técnicas estándar. Para preparaciones líquidas orales tales como, por ejemplo, suspensiones, elixires y soluciones, portadores, excipientes o diluyentes adecuados incluyen agua, glicoles, aceites y alcoholes. Adicionalmente, se pueden añadir agentes saborizantes, conservantes, agentes colorantes y similares.

- 20 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 implantación (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.

- 25 Alternativamente, se pueden emplear otros sistemas de aporte farmacéutico. Se pueden usar liposomas y emulsiones para aportar péptidos y peptidomiméticos. También se pueden emplear ciertos disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido, aunque habitualmente a costa de una mayor toxicidad. Adicionalmente, los compuestos se pueden aportar usando un sistema de liberación sostenida, tal como matrices semipermeables de polímeros sólidos que contienen el agente terapéutico.

- 30 Las cápsulas de liberación sostenida, dependiendo de su naturaleza química, pueden liberar los péptidos o peptidomiméticos durante de unas pocas semanas hasta más de 100 días. Dependiendo de la naturaleza química y la estabilidad biológica del reactivo terapéutico, se pueden emplear estrategias adicionales para la estabilización de proteínas.

- 35 Como los péptidos o peptidomiméticos de la invención pueden contener cadenas o extremos cargados, se pueden incluir en cualquiera de las formulaciones descritas anteriormente como los ácidos o las bases libres o como sales farmacéuticamente aceptables. Sales farmacéuticamente aceptables son las sales que retienen sustancialmente la actividad biológica de las bases libres y que se preparan mediante la reacción con ácidos inorgánicos. Las sales farmacéuticas tienden a ser más solubles en disolventes acuosos y otros disolventes próticos que las correspondientes formas de base libre.

- 40 Los agentes de la invención se usan en una cantidad eficaz para alcanzar el propósito pretendido. Una cantidad terapéuticamente eficaz significa una cantidad de agente suficiente para eliminar, reducir o inhibir el empeoramiento de al menos un signo y/o síntoma de ansiedad o uno de sus subtipos en un paciente que experimenta síntomas de ansiedad. Por ejemplo, una cantidad se considera terapéuticamente eficaz si reduce significativamente al menos un signo o síntoma de ansiedad en una población de pacientes (seres humanos o animales) tratados en comparación con una población de referencia de pacientes no tratados. La cantidad también se considera terapéuticamente eficaz si un paciente tratado individual alcanza un resultado más favorable que el resultado medio en una población de referencia de pacientes comparables no tratados por los métodos de la invención. Una cantidad profilácticamente eficaz de un agente significa una cantidad de agente suficiente para retardar, inhibir o evitar el desarrollo de al menos un signo o síntoma de ansiedad o uno de sus subtipos en un paciente que no está experimentando síntomas en el momento pero que se considera con alto riesgo de desarrollar tales síntomas con relación a la población general. Por ejemplo, se considera que una cantidad es profilácticamente eficaz si una población de pacientes con riesgo de desarrollar síntomas de ansiedad tratados con el agente desarrolla signos o síntomas reducidos con relación a una población de referencia no tratada con el agente. La mención a una cantidad eficaz significa una cantidad bien terapéuticamente o bien profilácticamente eficaz. La mención a un régimen eficaz significa una combinación de una cantidad eficaz y una frecuencia de dosificación requeridas para alcanzar el propósito pretendido que se describe anteriormente.

Intervalos de dosificación preferidos incluyen de 0,001 a 20  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso corporal del paciente, opcionalmente de 0,03 a 3  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso corporal del paciente en menos de 6 horas desde una apoplejía. En algunos métodos, se administran 0,1-20  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso corporal del paciente en menos de 6 horas desde una apoplejía. En algunos métodos, se administran 0,1-10  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso

corporal del paciente en menos de 6 horas, más preferiblemente aproximadamente 0,3  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso corporal del paciente en menos de 6 horas. En otros casos, el intervalo de dosificación es de 0,005 a 0,5  $\mu\text{mol}$  de agente por kg de peso corporal del paciente. La dosificación por kg de peso corporal se puede convertir de ratas a seres humanos al dividir por 6,2 para compensar las diferentes relaciones de superficie a masa. Las dosificaciones se pueden convertir de unidades de moles a gramos al multiplicar por el peso molar de un péptido. Dosificaciones adecuadas de péptidos o peptidomiméticos de la invención para el uso en seres humanos pueden incluir de 0,001 a 5 mg/kg de peso corporal del paciente o más preferiblemente de 0,005 a 1 mg/kg de peso corporal del paciente o de 0,05 a 1 mg/kg o de 0,09 a 0,9 mg/kg. En peso absoluto para un paciente de 75 kg, estas dosificaciones se traducen en 0,075-375 mg, de 0,375 a 75 mg o de 3,75 mg a 75 mg o de 6,7 a 67 mg. Redondeada para abarcar variaciones en, p. ej., el peso del paciente, la dosificación está habitualmente dentro de 0,05 a 500 mg, preferiblemente de 0,1 a 100 mg, de 0,5 a 50 mg o 1-20 mg.

La cantidad de agente administrada depende del sujeto que se trate, del peso del sujeto, la gravedad de la dolencia, el modo de administración y el juicio del médico que receta. La terapia se puede repetir intermitentemente mientras los síntomas sean detectables o incluso cuando no sean detectables. La terapia se puede proporcionar sola o en combinación con otros fármacos.

Una dosis terapéuticamente eficaz de los agentes puede proporcionar un beneficio terapéutico sin provocar una toxicidad sustancial. La toxicidad de los péptidos o peptidomiméticos se puede determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales experimentales, p. ej., al determinar la  $LD_{50}$  (la dosis letal para 50% de la población) o la  $LD_{100}$  (la dosis letal para 100% de la población). La relación de dosis entre el efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico. Se prefieren péptidos o peptidomiméticos que exhiban índices terapéuticos altos (véase, p. ej., Fingl et al., 1975, En: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, Cap. 1, p. 1).

#### VIII. Métodos de cribado

La presente divulgación proporciona además métodos para cribar péptidos, peptidomiméticos y otros compuestos con respecto a una actividad útil en el tratamiento de la ansiedad. Los compuestos se administran a un modelo de ansiedad en animales. La ansiedad puede ser inducida al poner a un animal, tal como una rata, en un ambiente desconocido y observar una respuesta (p. ej., cruzar una cuadrícula o seleccionar tubos abiertos o cerrados), tal como se describe en los Ejemplos.

Compuestos adecuados para el cribado en los métodos incluyen péptidos, peptidomiméticos y moléculas pequeñas (es decir, menores de 500 Da) que se sabe que inhiben interacciones de PSD-95 y NDMAR 2B. También se pueden cribar otros péptidos, peptidomiméticos y moléculas pequeñas que se sabe que inhiben interacciones entre otros pares de NDMAR y proteínas de dominio PDZ mostrados en la Tabla 1.

Los compuestos que se van a cribar pueden ser naturales y sintéticos, orgánicos e inorgánicos incluyen polímeros (p. ej., oligopéptidos, polipéptidos, oligonucleótidos y polinucleótidos), moléculas pequeñas, anticuerpos, azúcares, ácidos grasos, nucleótidos y análogos de nucleótidos, análogos de estructuras naturales (p. ej., miméticos de péptidos, análogos de ácidos nucleicos y similares) y otros muchos compuestos. Los compuestos se pueden preparar a partir de bibliotecas de diversidad, tales como bibliotecas peptídicas o no peptídicas aleatorias o combinatorias. Las bibliotecas incluyen bibliotecas químicamente sintetizadas, bibliotecas recombinantes (p. ej., bibliotecas de presentación de fagos) y basadas en la traducción in vitro. Ejemplos de bibliotecas químicamente sintetizadas se describen en Fodor et al., 1991, *Science* 251:767-773; Houghten et al., 1991, *Nature* 354:84-86; Lam et al., 1991, *Nature* 354:82-84; Medynski, 1994, *Bio/Technology* 12:709-710; Gallop et al., 1994, *J. Medicinal Chemistry* 37(9): 1233-1251; Ohlmeyer et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 10922-10926; Erb et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 11422-11426; Houghten et al., 1992, *Biotechniques* 13 :412; Jayawickreme et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 1614-1618; Salmon et al., 1993, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 11708-11712; WO 93/20242; y Brenner y Lerner, 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5381-5383. Ejemplos de bibliotecas de presentación de fagos se describen en Scott y Smith, 1990, *Science* 249:386-390; Devlin et al., 1990, *Science*, 249:404-406; Christian, R.B., et al., 1992, *J Mol. Biol.* 227:711-718); Lenstra, 1992, *J Immunol. Meth.* 152: 149-157; Kay et al., 1993, *Gene* 128:59-65; el documento WO 94/18318 con fecha 18 de agosto de 1994. Bibliotecas basadas en la traducción in vitro incluyen las descritas en el documento WO 91/05058; y Mattheakis et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 :9022-9026. A modo de ejemplos de bibliotecas no peptídicas, una biblioteca de benzodiazepinas (véase, p. ej., Bunin et al., 1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:4708-4712) se puede adaptar para el uso. También se pueden usar bibliotecas de peptoides (Simon et al., 1992, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:9367-9371). Otro ejemplo de una biblioteca que se puede usar, en la que las funcionalidades amida de los péptidos se han permitilado para generar una biblioteca combinatoria químicamente transformada, es descrito por Ostresh et al. (1994, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:11138-11142).

#### 55 Ejemplos

##### Métodos

Los experimentos se realizaron en ratas Sprague-Dawley macho adultas que pesaban 250-325 g (Charles River Laboratory, Canadá). Todos los procedimientos se ajustaban a las directrices establecidas por the Canadian Council

on Animal Care y con la aprobación del comité para el bienestar animal de the University of Prince Edward Island. Todos los animales se alojaron en grupos de 2-3 animales en jaulas con acceso libre a alimento y agua y en habitaciones que tenían una temperatura ambiente de  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  y un ciclo de luz/oscuridad de 12:12 h.

5 90 min. después de someterse a una inyección de NA-1 (o vehículo de solución salina) a través de la vena de la cola bajo anestesia con isoflurano/oxígeno, las ratas se probaron en un escenario de campo abierto para determinar tanto el estado de vigilancia como la capacidad para habituarse a un nuevo entorno. Además, las ratas se probaron en el laberinto en cruz elevado. Este laberinto se usó para evaluar la ansiedad/emotividad en las ratas. El laberinto consistía en 4 brazos (dos abiertos, dos cerrados: 15 cm de ancho y 60 cm de largo) que se extendían desde una plataforma central y elevada 1,5 m del suelo. Las ratas fueron colocadas en el centro del laberinto y se dejó libre elección para entrar en cualquier brazo; funcionalmente definido como tener la cabeza y las patas delanteras en un brazo. Se registró el tiempo transcurrido en los brazos abiertos o cerrados durante un ensayo de 10 min. y se puntuó (experimentador con enmascaramiento) a partir de grabaciones de video realizadas simultáneamente desde dos direcciones (superior y horizontal).

#### Resultados

15 La Fig. 1 muestra la puntuación de habituación media ( $\pm$  EEM) durante la prueba en laberinto en cruz elevado. No se encontraron diferencias significativas para el tiempo total transcurrido en el brazo abierto durante el ensayo de 10 min. (Solución salina  $174,80 \pm 43,23$ ; NA1  $127,46 \pm 18,99$ ).  $t_{14} = 1,003$ ,  $p = 0,333$ ). La puntuación de habituación se calculó como el tiempo total (s) transcurrido en el brazo abierto durante los últimos 5 minutos del laberinto en cruz elevado menos el tiempo total transcurrido en el brazo abierto durante los primeros 5 min. del laberinto en cruz elevado. Solución salina ( $n = 8$ ); NA-1 (3 nmol/gramo;  $n = 8$ ).  $t_{14} = -2,49$ ,  $p = 0,026$ .

20 La Fig. 2 muestra la puntuación de habituación media ( $\pm$  EEM) durante la prueba de campo abierto. No se encontraron diferencias significativas para cruces totales de la cuadrícula durante el ensayo de 10 min. (Solución salina:  $37,13 \pm 6,4$ ; NA-1:  $28,88 \pm 6,62$ ).  $t_{14} = 0,896$ ,  $p = 0,385$ . La puntuación de habituación se calculó como el número total de cuadrículas cruzadas durante los últimos 5 min. de la prueba de campo abierto menos el número total de cuadrículas cruzadas durante los primeros 5 minutos de la prueba de campo abierto. Solución salina ( $n = 8$ ); NA-1 (3 nmol/gramo;  $n = 8$ ).  $T_{14} = 3,373$ ,  $p = 0,005$ .

30 Se puede concluir de las Fig. 1 y 2 que el tratamiento con NA-1 reduce los niveles de ansiedad/emotividad de ratas en dos pruebas separadas. El comportamiento en el laberinto en cruz elevado se cuantificó como la cantidad media de tiempo transcurrido bien en un brazo "cerrado" o bien en un brazo "abierto"; normalmente las ratas tienden a evitar los espacios abiertos. La ratas tratadas con NA-1 se comportaron de forma similar a las ratas tratadas con solución salina en los primeros 5 minutos del ensayo. Sin embargo, en los 5 minutos siguientes, exhibían más cantidad de tiempo en el brazo abierto (tiempo reducido en un brazo cerrado) que las ratas tratadas con solución salina, sugiriendo que una vez que se habitúan a la prueba, exhiben niveles inferiores de ansiedad (Figura 1). Las ratas también se probaron en un escenario de campo abierto 90 min. después de la administración de NA-1 para determinar tanto el estado de vigilancia como la capacidad para habituarse a un nuevo entorno. Fueron puntuadas con respecto al número total de cruces de cuadrícula durante en ensayo de 10 minutos, como un índice de la conducta exploratoria que se traduce en vigilancia y habituación. Como con el laberinto en cruz elevado, las ratas sometidas a la prueba de campo abierto tampoco exhibían diferencias entre los grupos de referencia (solución salina) y tratado con NA-1 en los primeros 5 min. del experimento. Posteriormente, sin embargo, las ratas tratadas con NA-1 exhibían puntuaciones de habituación mejoradas (cruces de cuadrícula reducidos) en comparación con los animales tratados con solución salina, sugiriendo que se habituaban mejor a un entorno de campo abierto.

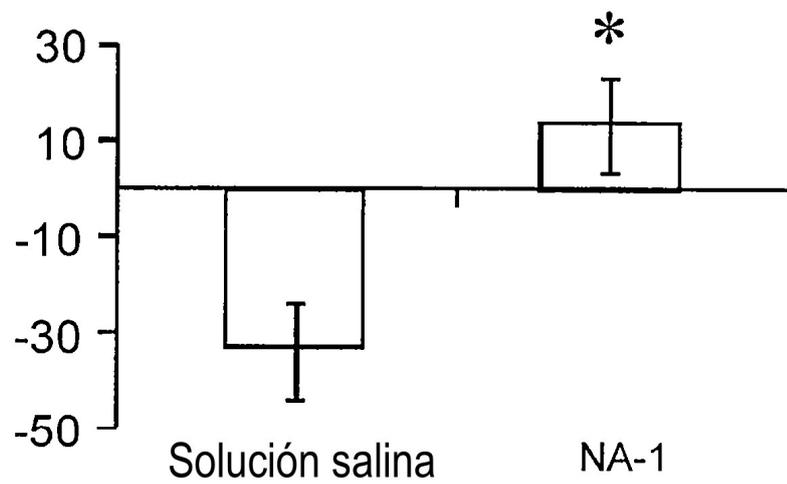
## REIVINDICACIONES

- 5 1. Un agente que inhibe la unión específica de PSD95 a un receptor de NMDA para el uso para tratar o efectuar la profilaxis de un paciente que tiene o está en riesgo de desarrollar síntomas de un trastorno de ansiedad, comprendiendo el agente un péptido activo que tiene una secuencia de aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID N°: 1).
2. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el péptido activo comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en ESDV (SEQ ID N°: 2), ESEV (SEQ ID N°: 3), ETDV (SEQ ID N°: 4), ETEV (SEQ ID N°: 5), DTDV (SEQ ID N°: 6), DTEV (SEQ ID N°: 7).
- 10 3. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el agente es un péptido quimérico que comprende un péptido activo que tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en 3-25 aminoácidos del extremo C de un receptor de NMDA o un dominio PDZ 1 y/o 2 de un receptor de PSD-95 ligado a un péptido de internalización.
4. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde (a) el péptido activo tiene una secuencia de aminoácidos que comprende KLSSIETDV (SEQ ID N°: 8) o (b) el péptido activo tiene una secuencia de aminoácidos que comprende KLSSIESDV (SEQ ID N°: 10).
- 15 5. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el agente es un péptido quimérico y (a) el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que comprende YGRKKRRQRRRKLSSIETDV (SEQ ID N°: 9), (b) el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en YGRKKRRQRRRKLSSIETDV (SEQ ID N°: 9); (c) el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que comprende YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEQ ID N°: 11) o (d) el péptido quimérico tiene una secuencia de aminoácidos que consiste en
- 20 YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEQ ID N°: 11).
6. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde (a) el paciente está libre de enfermedades distintas al trastorno de ansiedad que requieran tratamiento con el antagonista, (b) el paciente está libre de enfermedades distintas al trastorno de ansiedad mediadas por excitotoxicidad, (c) el paciente está libre de apoplejía o (d) el paciente está libre de enfermedades mediadas por excitotoxicidad.
- 25 7. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde (a) el agente se administra en respuesta a que el paciente haya experimentado un suceso que promueve la ansiedad, (b) el paciente tiene un episodio de ansiedad aguda, (c) el paciente está experimentando un trastorno de pánico, (d) el paciente tiene un trastorno fóbico y está siendo expuesto o está cerca de ser expuesto a la fobia, (e) el paciente tiene trastorno de ansiedad social y está siendo expuesto o está cerca de ser expuesto a una situación social que desencadenaría el trastorno, (f) el paciente
- 30 tiene un trastorno obsesivo-compulsivo y está mostrando síntomas del trastorno, (g) el paciente tiene sensaciones físicas de ansiedad, tales como palpitaciones cardíacas, náuseas, dolor torácico, disnea y/o cefalea tensional, (h) el paciente tiene síndrome de estrés postraumático o (i) el paciente tiene ansiedad por separación.
8. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde (a) el agente se administra en respuesta a que el paciente experimente un trastorno de ansiedad acerca de un suceso futuro o (b) el régimen eficaz se administra en
- 35 respuesta a un diagnóstico del trastorno de ansiedad en el paciente.
9. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde se administra al paciente un segundo régimen eficaz para tratar o efectuar la profilaxis del trastorno de ansiedad, opcionalmente, en donde el segundo régimen comprende (a) administrar un segundo agente o (b) administrar terapia conversacional.
10. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el paciente es un ser humano.
- 40 11. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el agente se administra mediante infusión intravenosa o subcutáneamente.
12. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el régimen eficaz se administra después del diagnóstico de un síntoma del trastorno de ansiedad en el paciente para aliviar el síntoma o detener o inhibir el desarrollo adicional del síntoma.
- 45 13. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el agente se administra junto con un portador farmacéuticamente aceptable como una composición farmacéutica.
14. El agente para el uso según la reivindicación 1, en donde el paciente se controla para evaluar los efectos del tratamiento sobre un síntoma y/o signo del trastorno de ansiedad.
- 50 15. El agente para el uso según la reivindicación 3, en donde el péptido quimérico se administra en una dosis de 0,05 a 500 mg, opcionalmente de 0,1 a 100 mg, de 0,5 a 50 mg o 1-20 mg.

# FIGURA 1

## Puntuación de Habitación

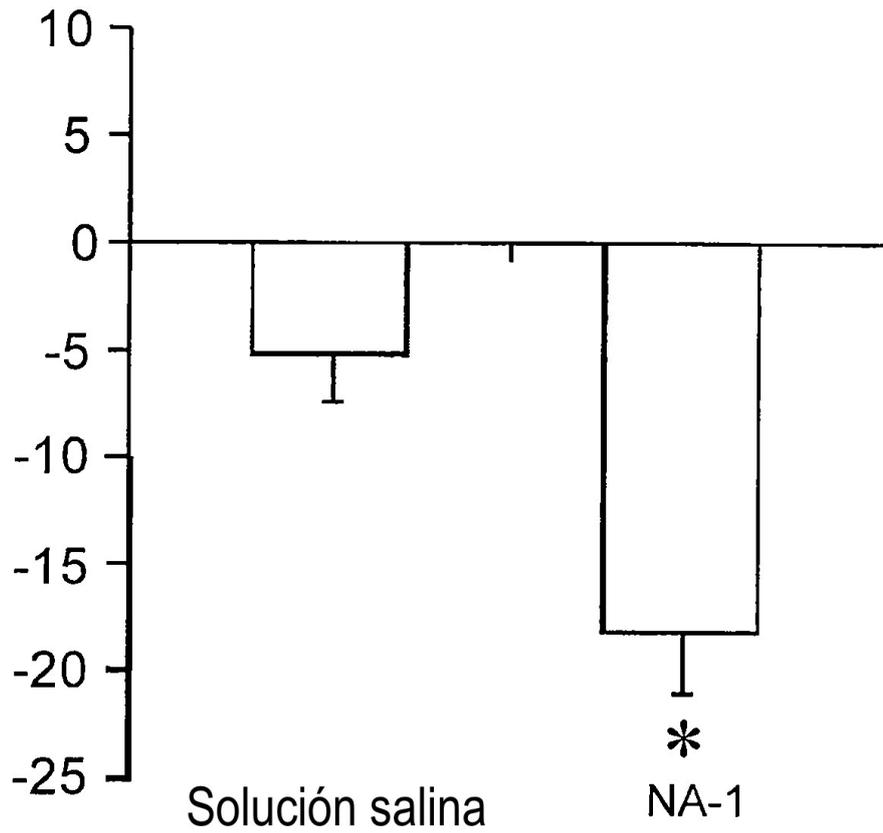
### Laberinto en Cruz Elevado (Tiempo en el Brazo Abierto)



### Tratamiento

## FIGURA 2

### Puntuación de Habitación Campo Abierto



Tratamiento