

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 688**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/496** (2006.01)

**A61P 7/02** (2006.01)

**A61P 7/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2012 PCT/US2012/060257**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.03.2014 WO14035446**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2012 E 12883653 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.09.2017 EP 2890376**

54 Título: **Métodos y composiciones para la reanimación hipotensiva**

30 Prioridad:

**31.08.2012 IN CH36172012**

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

**29.01.2018**

73 Titular/es:

**PHARMAZZ, INC. (50.0%)  
50 West 75th Street Suite 106  
Willowbrook, IL 60527, US y  
MIDWESTERN UNIVERSITY (50.0%)**

72 Inventor/es:

**GULATI, ANIL;  
LAVHALE, MANISH, S. y  
ANDURKAR, SHRIDHAR, V.**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 651 688 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

Métodos y composiciones para la reanimación hipotensiva

5 **Campo de la invención**

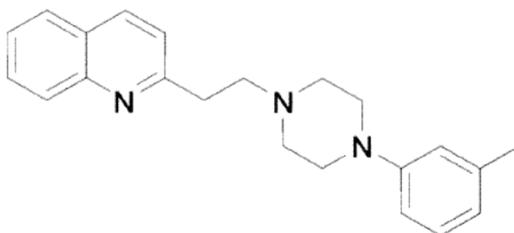
La presente invención se dirige a métodos y composiciones para revertir puntos finales de choque mejorando el gasto cardíaco, administrando el agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina a un mamífero, incluyendo seres humanos. El agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina se administra a una dosis baja, y típicamente junto con un volumen bajo de líquido de reanimación, como una solución coloide, una solución cristaloides, sangre, o un componente sanguíneo. La presente invención también se dirige a centaquina y citrato de centaquina purificadas, y sus métodos de preparación.

15 **Antecedentes de la invención**

El choque debido a hemorragia grave representa una gran proporción de muertes postraumáticas durante las fases tempranas de lesión (Wu, Dai et al., 2009). Una mayoría de muertes debidas a hemorragia se producen en las primeras seis horas después de traumatismo (Shackford, Mackersie et al. 1993), pero muchas de estas muertes se pueden prevenir (Acosta, Yang et al. 1998).

El choque va acompañado por insuficiencia circulatoria que es la principal causa de mortalidad y morbilidad. Actualmente, la terapia de fluidos recomendada usa grandes volúmenes de solución de Ringer con lactato (RL), que es eficaz en restablecer los parámetros hemodinámicos, pero presenta limitaciones logísticas y fisiológicas (Vincenzi, Cepeda et al. 2009). Por ejemplo, la reanimación usando un gran volumen de cristaloides, como RL, se ha asociado con síndrome de compartimento abdominal secundario, edema pulmonar, disfunción cardíaca, e íleo paralítico (Balogh, McKinley et al. 2003). Por tanto, existe una necesidad en la técnica para un agente de reanimación que mejore el tiempo de supervivencia, y se pueda usar con un pequeño volumen de líquido de reanimación, para reanimación en choque hipovolémico.

30 La centaquina (2-[2-(4-(3-metilfenil)-1-piperacínil)-etil]-quinolina) es un fármaco antihipertensivo que actúa centralmente. La estructura de la centaquina se determinó (Bajpai et al., 2000) y la conformación de centaquina se confirmó por difracción de rayos X (Carp y Saxena, 1991).



35 Estructura de centaquina (2-[2-(4-(3-metilfenil)-1-piperacínil)-etil]-quinolina) (como base libre)

Centaquina es un agente cardiovascular activo que produce un efecto inotrópico positivo y aumenta las contracciones ventriculares de corazón de conejo aislado perfundido (Bhatnagar, Pande et al. 1985). La centaquina no afecta las contracciones espontáneas de la aurícula derecha de cobaya, pero potencia significativamente el efecto inotrópico positivo de norepinefrina (NE) (Srimal, Mason et al. 1990). El efecto inotrópico positivo directo o indirecto de centaquina puede producir un aumento del gasto cardíaco (GC). La centaquina produce una disminución en la presión arterial media (PAM) y la frecuencia cardíaca (FC) en ratas anestesiadas y gatos y ratas conscientes con movimiento libre (Srimal, Gulati et al. 1990) debido a su actividad simpaticolítica central (Murti, Bhandari et al. 1989; Srimal, Gulati et al. 1990; Gulati, Hussain et al. 1991). Cuando se administró localmente en la arteria femoral de un perro, la centaquina (10 y 20  $\mu\text{g}$ ) aumentó el flujo de sangre, que era similar a lo observado con acetilcolina y papaverina. Sin embargo, el efecto vasodilatador de centaquina no se pudo bloquear por atropina o dibenamina (Srimal, Mason et al. 1990). El efecto vasodilatador directo o simpaticolítico central de centaquina es probable que disminuya la resistencia vascular sistémica (RVS).

50 Se encontró que centaquina aumenta el efecto reanimador de la solución salina hipertónica (SH) (Gulati, Lavhale et al. 2012). La centaquina disminuyó significativamente el lactato en sangre y aumenta PAM, volumen sistólico, y GC comparado con la solución salina hipertónica sola. Se teoriza, pero no se depende de, que las acciones cardiovasculares de la solución salina hipertónica y centaquina están mediadas a través del bulbo raquídeo ventrolateral en el cerebro (Gulati, Hussain et al. 1991; Cavun y Millington 2001) y la centaquina puede aumentar el efecto de la solución salina hipertónica.

Un gran volumen de RL (es decir, aproximadamente tres veces el volumen de pérdida de sangre) es la terapia de líquido de reanimación más comúnmente usada (Chappell, Jacob et al. 2008), en parte porque RL no muestra los efectos cardiovasculares centralmente mediados de la solución salina hipertónica. Se ha usado reanimación con gran volumen por personal médico de urgencias y cirujanos para revertir el choque hemorrágico y restablecer la perfusión de órgano final y oxigenación de tejido. Sin embargo, ha habido un vigoroso debate con respecto a los métodos óptimos de reanimación (Santry y Alam 2010).

Varios documentos como US2012083447, Gulati et al. (2011 y 2012) discuten los efectos reanimadores en choque de centaquina (base libre). Bajpai et al. (2000) en general se refieren a centaquina y análogos de la misma como potentes agentes antihipertensivos que actúan centralmente. El documento US3983121 divulga la síntesis de sustancias farmacológicamente activas, viz. centaquina y análogos, entre otros, citrato de centaquina.

### Compendio de la invención

La presente invención se dirige a composiciones para su uso en el tratamiento de choque hipotenso en mamíferos, incluyendo seres humanos. Más específicamente, la presente invención proporciona la administración del agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina en una dosis terapéuticamente eficaz para revertir puntos finales importantes de choque y actuar como un agente de reanimación eficaz.

También se divulgan en el presente documento métodos de tratamiento de enfermedades y afecciones en donde un gasto cardiaco aumentado, oxigenación de tejido aumentada, y perfusión de oxígeno aumentada proporcionan un beneficio que comprende administrar una dosis baja del  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina, solo o con un líquido de reanimación, tal como una solución coloide, una solución cristaloides, sangre o un componente sanguíneo.

En aún otra forma de realización, el agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina se administra con un líquido de reanimación administrado en una cantidad en volumen de hasta tres veces la cantidad en volumen de líquido corporal, por ejemplo, sangre, plasma, electrolitos o agua. Más preferiblemente, el líquido de reanimación se administra en una cantidad en volumen menor de y hasta la cantidad en volumen del líquido corporal perdido.

En otra forma de realización, el gasto cardiaco, oxigenación de tejido, o perfusión de órgano en un mamífero se mejora mediante la administración de citrato de centaquina.

Se divulga además en el presente documento un método para proporcionar una centaquina purificada y un citrato de centaquina purificado, y métodos de fabricación de los mismos.

Aun otro aspecto de la presente invención es proporcionar un artículo de fabricación para uso farmacéutico humano que comprende (a) un prospecto de envase, (b) un envase, y (c) una composición embalada que comprende el agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina y, opcionalmente, un líquido de reanimación embalado. El prospecto de envase incluye instrucciones para el uso de citrato de centaquina en mejorar el gasto cardiaco, en un individuo que padece choque según la reivindicación 1, tal como choque hipovolémico, síndrome de choque por dengue, y choque séptico.

Estos y otros aspectos y formas de realización de la presente invención serán aparentes de la siguiente descripción detallada de la invención.

### Breve descripción de las figuras

Las figuras 1(a) y (b) son espectros de masa de alta resolución de centaquina y citrato de centaquina, respectivamente.

La figura 2 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre la presión arterial media en ratas anestesiadas con uretano.

La figura 3 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre la presión diferencial en ratas anestesiadas con uretano.

La figura 4 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre la frecuencia cardiaca en ratas anestesiadas con uretano.

La figura 5 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre el gasto cardiaco en ratas anestesiadas con uretano.

La figura 6 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre el volumen sistólico en ratas anestesiadas con uretano.

5 La figura 7 contiene gráficos que muestran los efectos cardiovasculares de centaquina (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) y citrato de centaquina dihidrato (0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg) sobre el trabajo sistólico en ratas anestesiadas con uretano.

La figura 8 contiene gráficos que muestran el efecto de centaquina sobre el hematocrito sanguíneo en ratas con hemorragia.

10 La figura 9 contiene gráficos que muestran el efecto de centaquina sobre el lactato en sangre y deficiencia de base en ratas con hemorragia.

15 La figura 10 contiene gráficos que muestran el efecto de centaquina sobre la presión arterial media y frecuencia cardíaca en ratas con hemorragia.

La figura 11 contiene gráficos que muestran el efecto de centaquina sobre el gasto cardíaco y el volumen sistólico en ratas con hemorragia.

20 La figura 12 contiene gráficos que muestran el efecto de centaquina sobre la resistencia vascular sistémica y trabajo sistólico en ratas con hemorragia.

La figura 13 es una curva de supervivencia para los grupos de vehículo y tratamiento en ratas con hemorragia.

25 La figura 14 contiene gráficos de presión arterial media (mmHg) y frecuencia cardíaca (latidos por minuto) frente al tiempo para ratas en choque endotóxico que muestran el efecto de la administración de lipopolisacárido (LPS) con vehículo y con citrato de centaquina dihidrato (0,05 mg/kg).

#### 30 Descripción detallada de formas de realización preferidas

La presente invención se dirige a la administración del agente  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina para el tratamiento de una afección o enfermedad en donde un gasto cardíaco mejorado, una oxigenación de tejido mejorada, y perfusión de órgano mejorada proporcionan un beneficio.

35 Los métodos descritos en el presente documento se benefician del uso del  $\alpha_2$  adrenérgico citrato de centaquina. El citrato de centaquina se puede administrar con un líquido de reanimación, como una solución coloidal o una solución cristaloidal, típicamente usadas en el tratamiento de choque reanimador.

40 Para los fines de la invención divulgada en el presente documento, el término "tratamiento" incluye disminuir, mejorar o eliminar los puntos finales del choque y síntomas asociados. Como tal, el término "tratamiento" incluye administración terapéutica médica.

El término "envase" significa cualquier receptáculo y cierre para el mismo adecuado para almacenar, enviar, dispensar y/o manejar un producto farmacéutico.

45 El término "prospecto" significa información que acompaña a un producto que proporciona una descripción de cómo administrar el producto, junto con los datos de seguridad y eficacia requeridos para permitir que el médico, farmacéutico, y paciente tomen una decisión informada respecto al uso del producto. El prospecto de envase generalmente se considera como la "ficha técnica" para un producto farmacéutico.

50 El término "agente  $\alpha_2$  adrenérgico" significa un compuesto que estimula el sistema nervioso simpático, por ejemplo, que mimetiza los efectos de norepinefrina y epinefrina. Como se usa en el presente documento el término "agente  $\alpha_2$  adrenérgico" es singular o plural. Los ejemplos no limitantes de agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos incluyen, pero no están limitados a, centaquina, clonidina, guanfacina, guanabenz, guanoxabenz, guanetidina, xilacina, tizanidina, metildopa, fadolmidina, amidefrina, amitraz, anisodamina, apraclonidina, brimonidina, cirazolina, detomidina, dexmedetomidina, epinefrina, ergotamina, etilefrina, indanidina, lofexidina, medetomidina, mefentermina, metaraminol, metoxamina, mivazerol, nafazolina, norepinefrina, norfenefrina, octopamina, oximetazolina, fenilpropanolamina, rilmenidina, romifidina, sinefrina, talipexol, sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

60 Según la presente invención, se realizaron pruebas para determinar el efecto reanimador de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico representativo, es decir, citrato de centaquina. Sin embargo, los expertos en la materia reconocerán que los resultados presentados posteriormente para citrato de centaquina también serían demostrados otros agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos.

65 Puesto que la solución salina hipertónica muestra efectos cardiovasculares, los ensayos se realizaron usando solución de Ringer con lactato (RL), que no muestra ningún efecto cardiovascular centralmente mediado. Este

permite la determinación de efectos cardiovasculares atribuibles a centaquina u otro agente  $\alpha_2$  adrenérgico solo. Puesto que típicamente se usa un gran volumen de RL en terapia líquida, el efecto reanimador de centaquina se comparó a RL administrado a tres veces el volumen de pérdida de líquido, llamado en el presente documento "RL-300". Como también se usa en el presente documento, el término "RL-100" significa RL administrada a un volumen menor de y hasta igualar el volumen pérdida de líquido.

En los estudios divulgados posteriormente, se usó un modelo en roedor de hemorragia a presión fija sin traumatismo tisular. Este modelo limita factores que pueden influir la actividad de un fármaco que se investiga por primera vez como un agente de reanimación. Este modelo de hemorragia se hizo más grave manteniendo la hipotensión durante 30 minutos desde el inicio de la hemorragia para alcanzar una deficiencia de base mayor de -12 mEq/l (Gulati, Sen et al. 1997). En esta situación irreversible, los mecanismos compensatorios fallan (fase descompensatoria), y se produce una disminución tremenda en el flujo sanguíneo a todos los órganos, causando hipoperfusión que produce hipoxia tisular e insuficiencia de órganos finales (Gulati, Sen et al. 1997).

Se encontró que, en ratas control, RL-100 no era eficaz en mejorar el tiempo de supervivencia, revertir la deficiencia de base, disminuir los niveles de lactato en sangre, o mejorar PAM o GC. Esto sugiere que hay deuda de oxígeno persistente y reanimación inadecuada con RL-100. Por otra parte, centaquina mejoró todos estos parámetros y fue un agente de reanimación eficaz. Estos resultados apoyan la observación de que centaquina mejoró el efecto reanimador de la solución salina hipertónica (Gulati, Lavhale et al. 2012). Se ha postulado que algunos de los efectos cardiovasculares de la solución salina hipertónica están mediados a través del sistema nervioso central (SNC) y la centaquina aumenta estos efectos (Gulati, Lavhale et al. 2012). En el presente estudio, se usó RL, que no se sabe que tenga un efecto reanimador mediado por el SNC, y centaquina siguió siendo un agente de reanimación eficaz, indicando de esta manera que su efecto reanimador puede no estar enteramente mediado a través del SNC.

Centaquina se desarrolló en la década de 1970 como un fármaco antihipertensivo que actúa centralmente. Sin embargo, debido a una corta duración de acción, el desarrollo del fármaco se paró después de estudios en fase clínica I. La farmacología de centaquina es única porque tiene acción inotrópica positiva (Srimal, Mason et al. 1990) y acción simpaticolítica (Srimal, Gulati et al. 1990; Srimal, Mason et al. 1990; Gulati, Hussain et al. 1991). Esta acción inotrópica positiva aumenta el GC y PAM, mientras que la acción simpaticolítica produce vasodilatación y una disminución en PAM.

Se ha encontrado ahora que centaquina es un agente de reanimación eficaz que tiene una dosis eficaz para reanimación en órdenes de magnitud menores (por ejemplo, aproximadamente 0,001 mg/kg) que la dosis hipotensiva eficaz (0,45 mg/kg). En particular, experimentos iniciales en ratas con hemorragia con dosis de 0,45 mg/kg de centaquina no produjeron ningún aumento en la PAM de ratas con hemorragia, pero produjeron una disminución en la FC, un aumento en el GC, y una disminución en la RVS. De estos resultados, la acción simpaticolítica de centaquina a dosis mayores era más prominente comprada con la observada con dosis menores. Se teoriza, pero no se depende de, que una dosis menor de centaquina no fue capaz de alcanzar el sistema nervioso central en cantidad suficiente para hipotensión observable. Por tanto, es el efecto inotrópico positivo periférico que dominaba y producía un aumento en la PAM con las bajas dosis usadas para la reanimación de ratas con hemorragia.

La administración de centaquina disuelta en RL-100, que es un tercio el volumen de RL-300, mostró que centaquina era un agente de reanimación más eficaz porque mejoró significativamente el GC y la supervivencia de ratas comparado con RL-300. Además, se ha mostrado en modelos animales que la administración de líquido agresiva aumenta la hemorragia debido a presión arterial aumentada, dilución de los factores de coagulación, y disminución en la viscosidad de la sangre (Kowalenko, Stern et al. 1992; Bickell, Wall et al. 1994). Se ha propuesto que si se realizaba la "reanimación hipotensiva" (es decir, aumento moderado en la PAM) usando un pequeño volumen de líquido de reanimación, la posibilidad de retirar el coágulo formado, acidosis, hipotermia y coagulopatía era menor y podría prevenir el empeoramiento de la hemorragia (Watts, Trask et al. 1998; Engstrom, Schott et al. 2006; Kauvar, Lefering et al. 2006; Martini y Holcomb 2007; Morrison, Carrick et al. 2011). Puesto que se usó centaquina en un tercio del volumen comparado con RL-300 y un aumento en la PAM (aproximadamente de 20 a 25 mmHg) después de la reanimación era moderado, la pérdida de sangre adicional debe ser mínima cuando la reanimación se realiza con centaquina comparada con RL-300 de alto volumen solo.

El mecanismo de acción exacto de centaquina no se conoce. Sin embargo, estudios iniciales mostraron que centaquina (0,1, 1,0 y 10,0  $\mu\text{g/ml}$ ) producía un aumento inicial, seguido por una disminución, de liberación espontánea de norepinefrina e inhibía la liberación de norepinefrina provocada por cloruro de potasio y cloruro de dimetilfenilpiperacino (Bhatnagar, Pande et al. 1985). Por tanto, una disminución en la liberación de norepinefrina puede producir un aumento en la densidad de receptores  $\alpha$ -adrenérgicos, que puede haber mejorado la sensibilidad celular. La contracción espontánea de la aurícula derecha de cobaya no estaba afectada por centaquina hasta una concentración de 2  $\mu\text{g/ml}$ , pero centaquina significativamente potenciaba el efecto inotrópico positivo de norepinefrina (Srimal, Mason et al. 1990). La centaquina produjo un marcado aumento en el GC de ratas con hemorragia en el presente estudio. En las fases terminales de choque hemorrágico, la pérdida progresiva de sangre produce una serie compleja de respuestas autónomas que incluyen un aumento inicial en impulso simpático que produce un aumento global en la resistencia periférica total. Sin embargo, después de la pérdida de

aproximadamente el 20 al 30% de volumen de sangre, la actividad simpática disminuye rápidamente produciendo bradicardia, disminución en resistencia e hipotensión (Barcroft y Edholm 1945; Schadt y Lusbrook 1991). La centaquina también tiene actividad simpaticolítica central (Murti, Bhandari et al. 1989; Srimal, Gulati et al. 1990) que puede reducir la vasoconstricción causada por un aumento inicial en impulso simpático después del choque hemorrágico. El patrón hemodinámico solo puede no explicar enteramente las acciones de centaquina, y factores adicionales pueden contribuir hacia sus efectos reanimadores.

En conclusión, los ensayos descritos posteriormente muestran que centaquina y sus sales, en dosis bajas, mejoraron significativamente el GC, disminuyeron los niveles de lactato en sangre, y aumentaron los tiempos de supervivencia en ratas con hemorragia y son fármacos útiles en urgencias.

En otro estudio, se determinó el efecto de reanimación de centaquina en la cantidad de norepinefrina (NE) requerida para mantener la presión arterial media (PAM) y el tiempo en el que la PAM vuelve a caer a 35 mmHg en ratas con hemorragia. Se anestesiaron ratas adultas macho con uretano y se colocó un catéter de presión SPR-320 en la arteria femoral, y se colocó un catéter de presión y volumen SPR-869 en el ventrículo izquierdo. Se indujo la hemorragia sacando sangre y la PAM se mantuvo a 35 mmHg durante 30 minutos seguido por reanimación.

Se realizaron dos conjuntos de experimentos. Primero, se determinó la cantidad de NE requerida para mantener la PAM a 70 mmHg en ratas tratadas con solución salina normal (SN) o centaquina (0,05 mg/kg) (volumen igual a la pérdida de sangre). Segundo, se determinó el tiempo en el que la PAM volvió a caer a 35 mmHg en ratas tratadas con solución salina hipertónica al 3% (SH) o centaquina (0,05 mg/kg) (volumen un quinto de la pérdida de sangre). El hematocrito sanguíneo disminuyó después de la hemorragia y era similar en todos los grupos. El lactato en sangre fue  $4,10 \pm 1,02$  mmol/l en SN comparado con  $1,65 \pm 0,23$  mmol/l en centaquina ( $P=0,041$ ), 60 minutos después de la reanimación. La cantidad de NE necesaria en cada rata para mantener la PAM a 70 mmHg fue 175  $\mu$ g en SN y 17,5  $\mu$ g en el grupo de centaquina durante los primeros 60 minutos de reanimación. En un segundo conjunto de experimentos, se reanimaron ratas con hemorragia con SH o centaquina (un quinto del volumen de pérdida de sangre). En las ratas tratadas con centaquina, el lactato en sangre fue el 44% menor comparado con solución salina hipertónica, y el tiempo en el que la PAM volvió a caer a 35 mmHg fue  $38 \pm 7$  min en solución salina hipertónica comparado con  $148 \pm 15$  min en ratas tratadas con centaquina ( $P=0,0006$ ). Esto fue seguido por transfusión de sangre (un quinto del volumen de pérdida de sangre), en donde las ratas tratadas con solución salina hipertónica sobrevivieron durante  $53 \pm 7$  min comprado con  $78 \pm 8$  min en el grupo de centaquina ( $P=0,046$ ). Por tanto, centaquina es un agente de reanimación muy eficaz que disminuye el requisito de NE en ratas con hemorragia, posiblemente debido a sensibilidad vascular mejorada. Centaquina, con un volumen bajo de líquido de reanimación, mantuvo la PAM de ratas con hemorragia durante un tiempo considerablemente largo y mejoró el tiempo de supervivencia de las ratas.

También se encontró que la centaquina aumentaba la expresión de los receptores de endotelina A ( $ET_A$ ) en los vasos sanguíneos después de la administración intravenosa en ratas. La endotelina-1 ( $ET-1$ ) aumenta la reactividad vascular de receptores adrenérgicos actuando sobre los receptores  $ET_A$  (Tabuchi, Nakamaru et al. 1989; Gulati 1992; Gulati y Srimal 1993; Henrion y Laher 1993; Gulati y Rebello 1994; Sharma y Gulati 1995; Gondre y Christ 1998). Por tanto, la centaquina puede tener un papel complementario en el efecto reanimador mejorando la sensibilidad vascular en la reanimación de choque hemorrágico. El efecto reanimador de centaquina se determinó añadiendo centaquina a solución de Ringer con lactato o salina hipertónica en ratas con choque hemorrágico. Se anestesiaron ratas con uretano. La vena femoral se canuló para la administración de fármacos y la arteria femoral se canuló para medir la presión arterial media (PAM). Se colocó un catéter de presión y volumen calibrado (SPR-869) en el ventrículo izquierdo a través de la arteria carótida derecha. La inducción de choque hemorrágico se inició sacando sangre para mantener la PAM entre 35 y 40 mmHg durante 30 minutos. Los animales se dividieron en cuatro grupos: Grupo I, solución de Ringer con lactato, volumen igual al volumen de sangre perdida (SBV); Grupo II, solución de Ringer con lactato, volumen igual a SBV más centaquina 0,05 mg/kg; Grupo III, solución salina hipertónica al 3% (SH), volumen igual a SBV; Grupo IV, solución salina hipertónica al 3%, volumen igual a SBV más centaquina 0,05 mg/kg; los datos a los 30 minutos después de SH y 60 minutos después de la reanimación se resumen en la tabla siguiente:

	Tiempo	Grupo I (RL solo)	Grupo II (RL + centaquina)	Grupo III (Solución salina hipertónica al 3%)	Grupo IV (Solución salina hipertónica al 3% + centaquina)
Lactato en sangre (mmol/l)	Choque hemorrágico	7,2±0,7	7,1±0,4	7,4±0,4	7,3±0,4
	Reanimación	10,2±0,6	4,1±0,3	3,4±0,5	2,0±0,3
Presión arterial media (mmHg)	Choque hemorrágico	34,0±3,2	34,1±3,7	35,3±3,3	36,1±3,9
	Reanimación	24,2±3,5	53,9±4,2	35,1±4,5	60,1±4,1
Gasto cardiaco (ml/min)	Choque hemorrágico	29,0±5,6	27,4±5,1	39,7±4,4	36,4±4,5

	Reanimación	20,7±6,0	76,8±0,6	96,2±4,9	116,8±4,5
Resistencia vascular sistémica (mmHg/μl/min)	Choque hemorrágico	0,001±0,0001	0,001±0,00006	0,0008±0,0001	0,0009±0,00002
	Reanimación	0,001±0,0001	0,0007±0,00007	0,0003±0,0001	0,0005±0,00002
Tiempo de supervivencia (min)		78±9	387±38	144±22	326±55

Los datos en la tabla anterior muestran que la supervivencia mejoró significativamente ( $p < 0,001$ ) con la adición de centaquina al líquido de reanimación, ya sea RL o solución salina hipertónica. Similarmente el lactato en sangre era significativamente menor cuando se añadió centaquina al líquido de reanimación. Los resultados muestran que la adición de centaquina a un líquido de reanimación mejora las funciones cardiovasculares y la supervivencia.

Como se ha demostrado anteriormente, la centaquina mejora el gasto cardíaco, oxigenación de tejidos, y perfusión de órganos, y es útil en el tratamiento de enfermedades y afecciones en las que tales mejoras son necesarias, incluyendo choque hemorrágico. Estos beneficios proporcionados por centaquina se atribuyen a su actividad como un agente  $\alpha_2$  adrenérgico, y según esto, se espera asimismo que otros agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos conocidos proporcionen los resultados beneficiosos.

Por tanto, aunque los datos anteriores se presentan para un agente  $\alpha_2$  adrenérgico específico, los métodos de la presente invención también se pueden lograr por la administración de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico seleccionado del grupo que consiste en centaquina, clonidina, guanfacina, guanabenz, guanoxabenz, guanetidina, xilacina, tizanidina, metildopa, fadolmidina, amidefrina, amitraz, anisodamina, apraclonidina, brimonidina, cirazolina, detomidina, dexmedetomidina, epinefrina, ergotamina, etilefrina, indanidina, lofexidina, medetomidina, mefentermina, metaraminol, metoxamina, mivazerol, nafazolina, norepinefrina, norfenefrina, octopamina, oximetazolina, fenilpropranolamina, rilmenidina, romifidina, sinefrina, talipexol, sales de los mismos, y mezclas de los mismos.

Además de los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos divulgados en el presente documento, también se pueden usar sales de los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos en el método presente. Los ejemplos de sales adecuadas incluyen, pero no están limitados a, sales de adición ácida formadas con ácidos inorgánicos tal como nítrico, bórico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico, y ácidos orgánicos tal como oxálico, maleico, succínico, tartárico y cítrico. Los ejemplos no limitantes de agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos incluyen, pero no están limitados a, las sales clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, 2-hidroxietansulfonato, fosfato, hidrogenofosfato, acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, digluconato, glicerolfosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, succinato, fumarato, maleato, ascorbato, isetionato, salicilato, metanosulfonato, mesitilensulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, undecanoato, lactato, citrato, tartrato, gluconato, metanosulfonato, etanodisulfonato, benceno sulfonato, y p-toluenosulfonato.

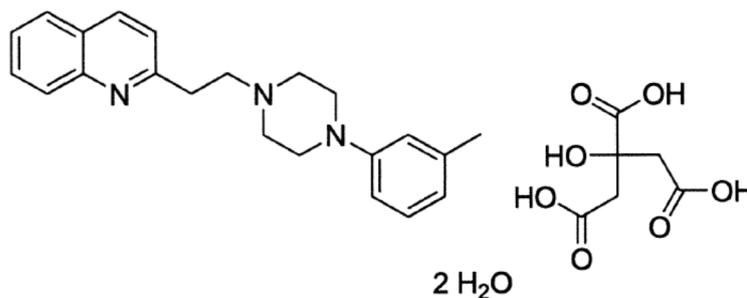
Las sales preferidas son sales de ácidos orgánicos, tal como citrato, tartrato, malato, succinato, oxalato, fumarato, maleato, ascorbato, lactato, gluconato, digluconato y aspartato, por ejemplo. Una sal más preferida es una sal citrato, una sal lactato o una sal tartrato.

Como se ha demostrado anteriormente, centaquina se administra a una dosis baja para alcanzar los beneficios de los presentes métodos. Por tanto, se administra centaquina, como base libre, en una cantidad de 0,001 a menos de 0,05 mg por kg de peso del individuo que se trata (mg/kg), preferiblemente de aproximadamente 0,003 a aproximadamente 0,04 mg/kg, y más preferiblemente de aproximadamente 0,005 a aproximadamente 0,03 mg/kg.

Más particularmente, se administra centaquina, como la base libre, de dosis en mg/kg de 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,010, 0,011, 0,012, 0,013, 0,014, 0,015, 0,016, 0,017, 0,018, 0,019, 0,020, 0,021, 0,022, 0,023, 0,024, 0,025, 0,026, 0,027, 0,028, 0,029, 0,030, 0,031, 0,032, 0,033, 0,034, 0,035, 0,036, 0,037, 0,038, 0,039, 0,040, 0,041, 0,042, 0,043, 0,044, 0,045, 0,046, 0,047, 0,048, o 0,049, y todos los intervalos y subintervalos en los mismos.

Como se demuestra posteriormente, centaquina también se puede administrar en forma de sal, por ejemplo, citrato de centaquina, para alcanzar los beneficios de los presentes métodos. Se administra citrato de centaquina en una cantidad de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 1,5 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,0002 a aproximadamente 0,8 mg/kg, y más preferiblemente desde aproximadamente 0,0004 a aproximadamente 0,5 mg/kg. Más particularmente, se puede administrar citrato de centaquina a dosis en mg/kg (como citrato de centaquina) de 0,001, 0,002, 0,003, 0,004, 0,005, 0,006, 0,007, 0,008, 0,009, 0,010, 0,011, 0,012, 0,013, 0,014, 0,015, 0,016, 0,017, 0,018, 0,019, 0,020, 0,021, 0,022, 0,023, 0,024, 0,025, 0,026, 0,027, 0,028, 0,029, 0,030, 0,031, 0,032, 0,033, 0,034, 0,035, 0,036, 0,037, 0,038, 0,039, 0,040, 0,041, 0,042, 0,043, 0,044, 0,045, 0,046, 0,047, 0,048, 0,049, 0,05, 0,051, 0,052, 0,053, 0,054, 0,055, 0,06, 0,065, 0,07, 0,075, 0,08, 0,085, 0,09, 0,095, 0,1, 0,15, 0,2, 0,25, 0,3, 0,35, 0,4, 0,45, 0,5, 0,55, 0,6, 0,65, 0,7, 0,75, 0,8, 0,85, 0,9, 0,95, 1,0, 1,1, 1,2, 1,3, 1,4, o 1,5, y todos los intervalos y subintervalos en los mismos.

Basado en el peso molecular de centaquina (base libre) (MW-332) y citrato de centaquina (MW-523), para idénticas dosis de centaquina (como base libre) y citrato de centaquina, el citrato de centaquina proporciona solo el 63,5% de centaquina base libre comparado con la dosis de centaquina base libre, por ejemplo, una dosis de 0,05 mg de citrato de centaquina contiene 0,0318 mg de centaquina (como base libre). Similarmente, una dosis de citrato de centaquina dihidrato (MW-559) proporciona el 59,4% de centaquina (base libre) de la dosis como centaquina (como base libre), es decir, una dosis de 0,0005 mg de citrato de centaquina dihidrato contiene 0,030 mg de centaquina (como base libre). Sorprendentemente, y como se demuestra posteriormente, a la misma dosis en mg/kg citrato de centaquina y citrato de centaquina dihidrato proporcionan mayores efectos cardiovasculares que centaquina base libre.



Estructura de citrato de centaquina dihidrato

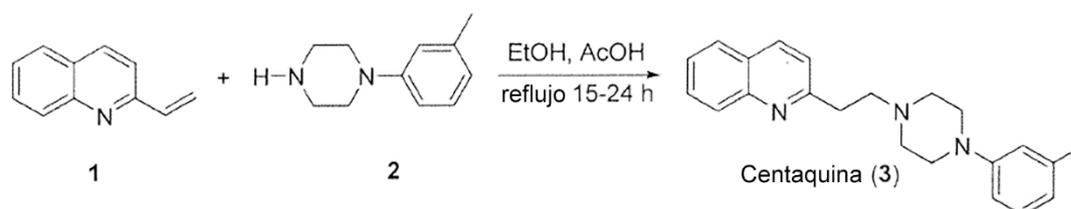
El agente  $\alpha_2$  adrenérgico típicamente se coadministra con un líquido de reanimación. El líquido de reanimación puede ser una solución coloidal, una solución cristaloidal, sangre, un componente sanguíneo o un sustituto de sangre. Los ejemplos no limitantes de soluciones coloidales y soluciones cristaloidales son lactato de Ringer, solución salina, solución salina hipertónica, una solución de albúmina, una solución de dextrano, una solución de hidroxietilalmidón, una solución de gelatina y una solución de almidón. Los ejemplos de un componente sanguíneo son plasma, glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, factores de coagulación, proteínas, y hormonas. El sustituto de sangre puede ser un sustituto de sangre basado en hemoglobina o un sustituto basado en perfluorocarbono.

El líquido de reanimación se puede administrar en una cantidad en volumen de hasta tres veces la cantidad en volumen de líquido, por ejemplo, sangre, plasma, agua, perdida por un individuo. En formas de realización preferidas, el líquido de reanimación se administra en una cantidad en volumen menor de y hasta la cantidad en volumen de líquido perdido por el individuo, por ejemplo, una cantidad en volumen del 5%, preferiblemente del 10% o el 20%, y hasta el 100% de la cantidad en volumen de líquido perdido.

Según formas de realización preferidas de la invención, el agente  $\alpha_2$  adrenérgico administrado a un individuo es centaquina o citrato de centaquina. En formas de realización más preferidas, la centaquina es una centaquina purificada que tiene un punto de fusión de  $94 \pm 2^\circ\text{C}$  o un citrato de centaquina purificado que tiene un punto de fusión de  $94 \pm 2^\circ\text{C}$ . También se puede administrar un hidrato de citrato de centaquina, por ejemplo, un 0,5 hidrato, 0,7 hidrato, monohidrato o dihidrato.

### Método mejorado para preparar y purificar centaquina y citrato de centaquina

#### Síntesis de centaquina



La síntesis de centaquina fue descrita por Murthi y colaboradores (Murthi et al. patente en EE UU No. 3.983.121; Murthi, Bhandari et al. 1989). En un procedimiento, los reactivos 1 y 2 se agitaron a reflujo durante 15 horas. El producto resultante se purificó por evaporación de los solventes para obtener un aceite, que se calentó al vacío ( $100^\circ\text{C}$ , 1 mm Hg). El residuo resultante se cristalizó de éter-éter de petróleo para obtener el producto final centaquina 3. El punto de fusión descrito para centaquina era  $76-77^\circ\text{C}$ . En una publicación posterior (Murthi, Bhandari et al. 1989), la mezcla de reacción se concentró después de 24 horas de reflujo, se diluyó con agua, y se basificó con NaOH acuoso. La mezcla básica se extrajo con acetato de etilo y los extractos de acetato de etilo se secaron

sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporaron al vacío para dar centaquina que se cristalizó de hexano. El punto de fusión para centaquina (base libre) obtenida en este procedimiento fue 82°C. El producto obtenido usando cualquier método de purificación es tostado claro de color, que es indicativo de pequeñas cantidades de impurezas que no se eliminaron por completo usando los métodos de purificación previamente descritos.

Se encontró un método de purificación mejorado. Según el método mejorado, los reactivos 1 y 2 se agitaron a reflujo durante 24 horas. Los solventes se evaporaron al vacío y la mezcla resultante se diluyó con agua y se basificó (NaOH al 10%). La mezcla básica se extrajo con acetato de etilo y los extractos de acetato de etilo combinados se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporaron al vacío para obtener un residuo, que se purificó adicionalmente con cromatografía en columna (SiO<sub>2</sub>, acetato de etilo). El producto resultante se puede decolorar usando carbono activo o directamente cristalizar de hexano caliente para dar centaquina pura. El producto resultante es un sólido cristalino blanquecino que tiene un punto de fusión de 94-95°C (base libre). El producto se caracterizó usando RMN de protón, espectro de masas, y análisis elemental e indicaba alta pureza y calidad superior.

Síntesis y caracterización de centaquina (base libre): Una mezcla de 2-vinilquinolina (1) (5,0 g, 32,2 mmol, 98,5%) y 1-(3-metilfenil)piperacina (2) (5,68 g, 32,2 mmol, 99,0%) en alcohol etílico absoluto (150 ml) y ácido acético glacial (3,5 ml) se agitó a reflujo durante 24 horas en un matraz de fondo redondo. La mezcla de reacción se concentró al vacío, se diluyó con agua (150 ml) y se trató con NaOH al 10% (150 ml). El residuo se extrajo con acetato de etilo (4 x 125 ml), se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentró a presión reducida para dar un producto crudo que se purificó por cromatografía en columna usando gel de sílice (malla 100-200) con acetato de etilo como eluyente. El compuesto resultante se recristalizó de hexano caliente y se filtró, para dar centaquina como un sólido cristalino blanquecino (7,75 g, 23,4 mmol, rendimiento del 73%). pf 94-95°C; R<sub>f</sub> 0,30 (acetato de etilo al 100%); <sup>1</sup>H RMN (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,07 (t, J= 7,5 Hz, 2 H), 7,78 (d, J= 7,8 Hz, 1 H), 7,70 (t, J= 7,8 Hz, 1 H), 7,50 (t, J= 7,5 Hz, 1 H), 7,36 (d, J= 8,4 Hz, 1 H), 7,16 (t, J= 7,5 Hz, 1 H), 6,77-6,74 (m, 2 H), 6,69 (d, J= 7,2 Hz, 1 H), 3,26-3,21 (m, 6 H), 2,97-2,92 (m, 2 H), 2,76-2,73 (m, 4 H), 2,32 (s, 3 H); HRMS (ESI) m/z 332,2121 [M+1]<sup>+</sup> (calculada para C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub> 332,2122); Anal. (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>) C, H, N.

Preparación de citrato de centaquina: Ser trató centaquina (base libre) (5,62 g, 16,98 mmol) con ácido cítrico (3,26 g, 16,98 mmol) en un solvente adecuado y se convirtió a la sal citrato obtenida como un sólido blanquecino (7,96 g, 15,2 mmol, 90%); p.f. 94-96°C; Anal. (C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O) C, H, N.

Las figuras 1(a) y 1(b) son análisis espectrales de masa de alta resolución de centaquina base libre (Fig. 1(a)) y citrato de centaquina (Fig. 1(b)). Se analizaron muestras de los compuestos después de ionización usando ionización de electrospray (ESI).

Para centaquina base libre en la figura 1(a), se observó un pico base [M+1]<sup>+</sup> a m/z 332,2141 (teoría: 332,2121) consistente con la composición elemental de centaquina protonada (C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>).

Para citrato de centaquina en la figura 1(b), el espectro de masas era idéntico al espectro de masa obtenido para la base libre. Se observó un pico base [M+1]<sup>+</sup> a m/z 332,2141 (teoría: 332,2121), que corresponde con la composición elemental de centaquina protonada (C<sub>22</sub>H<sub>26</sub>N<sub>3</sub>). Este resultado es típico de sales de bases orgánicas para dar [M+1]<sup>+</sup> de la base libre como se observa aquí con citrato de centaquina.

La espectrometría de masas es uno de los métodos analíticos más sensibles, y el examen de los espectros de masa de la figura 1 indica que las muestras carecen de cualquier pico extraño y son de pureza homogénea (>99,5).

Las figuras adjuntas ilustran la eficacia de centaquina y citrato de centaquina en el tratamiento de enfermedades y afecciones donde una mejora en el gasto cardíaco, oxigenación de tejidos y perfusión de oxígeno proporciona un beneficio, es decir, en revertir los puntos finales de choque. En las siguientes figuras, la cantidad de fármaco dosificada es centaquina (como base libre) y citrato de centaquina (como citrato). Como se ha discutido anteriormente, la cantidad de centaquina (como base libre) en una dosis de citrato de centaquina es solo el 63,5% de la cantidad de centaquina en la misma dosis de centaquina como base libre, es decir, una dosis de 5 mg de centaquina como base libre es una dosis de 5 mg de centaquina base libre, mientras que una dosis de 5 mg de citrato de centaquina es equivalente a una dosis de 3,1 mg de centaquina como base libre. Similarmente, una dosis de 5 mg de citrato de centaquina dihidrato es equivalente a una dosis de 3,0 mg de centaquina (base libre), es decir, el 59,4%.

Como se demuestra en las figuras adjuntas, una dosis en mg/kg de citrato de centaquina supera mucho la misma dosis en mg/kg de centaquina, aunque la dosis de citrato de centaquina proporciona solo el 63% de centaquina base libre que la dosis de centaquina base libre. Este resultado inesperado e impredecible se muestra en las figuras 2 a 7.

Las figuras 2 a 7 contienen gráficos de varios efectos cardiovasculares demostrados por centaquina y citrato de centaquina a lo largo del tiempo. En estos gráficos, centaquina se prueba como la base libre en cantidades de 0,05, 0,15 y 0,45 mg/kg. Similarmente, el citrato de centaquina dihidrato se prueba en cantidades de 0,05, 0,15 y 0,45

mg/kg. Estas cantidades de citrato de centaquina son equivalentes a 0,030, 0,089 y 0,267 mg/kg de centaquina como base libre.

Las figuras 2 a 7 muestran que centaquina y citrato de centaquina proporcionan efectos cardiovasculares positivos de presión sanguínea media, presión diferencial, frecuencia cardíaca, gasto cardíaco, volumen sistólico, y trabajo sistólico en ratas anestesiadas con uretano durante un periodo de tiempo de 60 minutos. Sorprendentemente, el citrato de centaquina, a una cantidad de centaquina base libre sustancialmente menor que una cantidad de centaquina base libre administrada, superó sustancialmente centaquina base libre con respecto a efectos cardiovasculares.

La figura 8 muestra el efecto de centaquina (base libre) sobre el hematocrito sanguíneo en ratas con hemorragia. Un grupo de referencia de ratas se canuló, pero sin hemorragia. Un grupo de vehículo recibió solución salina hipertónica. Los grupos de tratamiento recibieron centaquina (base libre) (0,006, 0,017 o 0,05 mg/kg) en solución salina hipertónica. Los valores se expresan como media  $\pm$  E.E.M con n=6 ratas en cada grupo. Los datos en la figura 8, y en las siguientes figuras 9-13, muestran que dosis muy bajas de centaquina (base libre) tienen un efecto positivo sobre efectos cardiovasculares.

Las figuras 9-12 muestran el efecto de centaquina en el lactato en sangre y deficiencia de base en ratas con hemorragia (figura 9); en presión arterial media y frecuencia cardíaca (figura 10); en gasto cardíaco y volumen sistólico (figura 11); y en resistencia vascular sistémica y trabajo sistólico (figura 12). Como las pruebas de la figura 8, un grupo de referencia de ratas se canuló pero sin hemorragia, un grupo de vehículo recibió solución salina hipertónica, y los grupos de tratamiento recibieron centaquina base libre (0,006, 0,017 o 0,05 mg/kg) en solución salina hipertónica. Los valores se expresan como media  $\pm$  E.E.M con n=6 ratas en cada grupo. \*p<0,05 comparado al basal, #p<0,05 comparado con hemorragia,  $\Delta$ p<0,05 comparado con el grupo tratado con vehículo.

Tales efectos cardiovasculares positivos hacen de centaquina un agente de reanimación excelente para revertir los puntos finales del choque. De forma importante, mediante la administración de centaquina, citrato de centaquina o hidrato del mismo, u otro agente  $\alpha_2$  adrenérgico o sal del mismo, la cantidad en volumen de un líquido de reanimación se puede reducir, por ejemplo, uso de RL-100 en oposición a RL-300, que elimina los efectos adversos atribuidos a usar un alto volumen de líquido de reanimación.

La figura 13 es un gráfico de la fracción de supervivencia frente al tiempo para grupos de ratas con hemorragia. El grupo de referencia de ratas se canuló pero sin hemorragia. El grupo de vehículo recibió solución salina hipertónica, mientras que los grupos de tratamiento recibieron centaquina (base libre) (0,006, 0,017 o 0,05 mg/kg) en solución salina hipertónica.

## Métodos de tratamiento

### Choque hipovolémico

El choque hipovolémico produce una reducción del volumen de sangre o líquido, que se puede atribuir a pérdida de sangre (interna y externa), deshidratación, diarrea, quemaduras, y vómitos, por ejemplo. El choque hipovolémico está causado por la pérdida tanto de volumen de sangre circulante como de capacidad portadora de oxígeno. El choque debido a hemorragia grave representa una gran parte de las muertes postraumáticas, y es un factor causante principal en casi la mitad de las muertes en el campo de batalla (Wu, Dai et al. 2009). La mayoría de las muertes debidas a hemorragia se producen en las primeras seis horas después del traumatismo (Shackford, Mackeris et al. 1993) y muchas de estas muertes se pueden prevenir (Bellamy 1984; Acosta Yang et al. 1998).

El choque hemorrágico es un estado grave que resulta de excesiva pérdida de sangre y perfusión de oxígeno inadecuada, que no consigue sostener las necesidades fisiológicas de tejidos de órganos y puede producir inestabilidad hemodinámica. En choque, la pérdida de sangre supera la capacidad del cuerpo para compensar y proporcionar perfusión y oxigenación a tejidos adecuadas. En las fases iniciales de hipovolemia, los mecanismos compensatorios fisiológicos redistribuyen el gasto cardíaco y el volumen de sangre. El corazón desempeña un papel crítico en compensar para pérdidas en choque temprano, y las respuestas se asocian con taquicardia refleja y volumen sistólico aumentado. Hay intensa vasoconstricción en la piel, músculo esquelético, y circulación esplácnica. Las circulaciones coronaria, renal y cerebral no experimentan un aumento en resistencia vascular en choque temprano. Por tanto, el gasto cardíaco se desvía a órganos vitales en las fases iniciales del choque.

En una fase posterior, el choque está acompañado por insuficiencia circulatoria que es principalmente responsable de mortalidad y morbilidad. Por tanto, es imperativo que los pacientes hemodinámicamente inestables reciban asistencia y reanimación. El choque desencadena múltiples mecanismos compensatorios para conservar la oxigenación y flujo sanguíneo a tejidos, tal como activación del sistema nervioso simpático, alteración en funciones cardíacas, cambios hormonales, volumen renal, y desequilibrio de electrolitos (Heslop, Keay et al. 2002; Liu, Ward et al. 2003; Hardy, de Moerloose et al. 2006; Pfeifer, Kobbe et al. 2011).

- Los pacientes con hemorragia se reaniman con líquidos cristaloides intravenosos para restablecer la distribución de oxígeno. Sin embargo, los pacientes pueden desarrollar pérdida irreversible de perfusión del lecho capilar, coagulopatía, hipotermia, acidosis, supresión inmunitaria, inflamación sistémica, agresión oxidativa, insuficiencia de múltiples órganos, y muerte (Bickell, Bruttig et al. 1991; Rhee, Burris et al. 1998; Heslop, Keay et al. 2002; Liu, Ward et al. 2003; Dubick, Bruttig et al. 2006; Hardy, de Moerloose et al. 2006; Alam y Rhee 2007; Pfeifer, Kobbe et al. 2011).
- La reanimación con una solución cristaloides, una solución coloidal, o glóbulos rojos empaquetados diluye los factores de coagulación del plasma y exacerba la hemorragia (Hardy, de Moerloose et al. 2006; Malone, Hess et al. 2006). Las dos soluciones cristaloides isotónicas más comúnmente usadas en departamentos de urgencia y marcos prehospitalarios son la solución de Ringer con lactato (RL) y solución salina normal (SN). Estos líquidos poseen extremos de pH tan bajos como 4,5 para SN y 6,0 para RL. Usar grandes cantidades de SN en pacientes con traumatismo con choque contribuye a la acidosis metabólica que puede empeorar la coagulopatía (Ho, Karmakar et al. 2001) produciendo hemorragia adicional, que necesita reanimación con líquido adicional que contribuye a coagulopatía más profunda debido a hemodilución e hipotermia. El choque hemorrágico y la reanimación también se asocian con el desarrollo de inflamación, agresión oxidativa, y apoptosis que producen insuficiencia de múltiples órganos y muerte (Ganster, Burban et al. 2010; Hsia y Ma 2011; Zacharias, Sailhamer et al. 2011).
- La terapia de líquidos actual recomendada de usar grandes volúmenes de RL es eficaz en restablecer los parámetros hemodinámicos, pero presenta limitaciones logísticas y fisiológicas (Vincenzi, Cepeda et al. 2009). La reanimación con un gran volumen de cristaloides se ha asociado con síndrome de compartimento abdominal secundario, edema pulmonar, disfunción cardíaca, e íleo paralítico (Balogh, McKinley et al. 2003). Se ha propuesto incluso que RL puede ser perjudicial en pacientes con hemorragia incontrolada (Bickell, Bruttig et al. 1991; Bickell, Bruttig et al. 1992). Aparentemente, RL exacerba la actividad de aumento de superóxido de neutrófilos y aumenta la adherencia de neutrófilos (Rhee, Burris et al. 1998). La reanimación agresiva con cristaloides produjo activación aumentada de citoquinas incluyendo, IL-1, IL-6 y TNF (Hierholzer, Harbrecht et al. 1998). RL también activa el sistema inmunitario y puede contribuir a lesión celular secundaria (Rhee, Koustova et al. 2003; Alam, Stanton et al. 2004; Ayuste, Chen et al. 2006; Watters, Tieu et al. 2006).
- Se ha usado la reanimación con gran volumen por personal médico de urgencias y cirujanos para revertir el choque hemorrágico y restablecer la perfusión de órgano final y oxigenación de tejidos. Sin embargo, ha habido un debate vigoroso sobre los métodos óptimos de reanimación (Santry y Alam 2010). Está cada vez más claro que el método deseado de reanimación implicará usar un pequeño volumen más que un gran volumen de líquido de reanimación y mantener una presión sanguínea que está ligeramente por debajo de lo normal, lo que parece producir mejores desenlaces clínicos (Dries 1996; Gulati, Sen et al. 1997; Drabek, Kochanek et al. 2011; Morrison, Carrick et al. 2011). La presente invención permite el uso de bajo volumen de líquido de reanimación mediante la coadministración de una dosis baja de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico.
- Se realizaron experimentos iniciales en ratas con hemorragia con una dosis de 0,45 mg/kg de centaquina. A esta dosis, centaquina (como base libre) no produjo un aumento en la PAM de ratas con hemorragia y se encontró que la PAM (mmHg) era de  $34 \pm 3$  en hemorragia, y  $38 \pm 4$ ,  $39 \pm 4$  y  $35 \pm 4$  a los 30, 60 y 120 minutos, respectivamente, después de la reanimación. Centaquina (0,45 mg/kg) produjo una disminución en la FC (latidos/min) de  $368 \pm 12$  en hemorragia, a  $306 \pm 6$ ,  $309 \pm 6$  y  $274 \pm 11$  a los 30, 60 y 120 min, respectivamente, después de reanimación; el gasto cardíaco (ml) aumentó de  $32 \pm 6$  en hemorragia a  $77 \pm 3$ ,  $74 \pm 4$  y  $62 \pm 5$  a los 30, 60 y 120 min, respectivamente, después de la reanimación; mientras la resistencia vascular sistémica (dinas\*seg/cm<sup>5</sup>) era  $84 \pm 4$  en hemorragia, y cayó a  $39 \pm 9$ ,  $42 \pm 9$  y  $45 \pm 6$  a los 30, 60 y 120 min, respectivamente, después de la reanimación. De estos resultados, a mayores dosis, la acción simpaticolítica de centaquina era más prominente comprada con la observada con dosis menores.
- Según la presente invención se puede administrar citrato de centaquina (o un solvato del mismo) como un agente de reanimación a dosis con órdenes de magnitud menores (por ejemplo, aproximadamente 0,001 mg/kg) que la dosis hipotensiva (0,45 mg/kg). Dosis bajas de centaquina y citrato de centaquina produjeron un aumento en la presión sanguínea cuando se infunden por vía intravenosa, mientras que dosis mayores produjeron una caída en la presión sanguínea. Se encontró que bajas dosis de centaquina eran más eficaces en reanimación porque a una dosis baja centaquina no es capaz de alcanzar el sistema nervioso central en la cantidad necesaria para producir hipotensión observable. Por tanto, es el efecto inotrópico positivo periférico de centaquina el que predomina y produce un aumento en la presión arterial media a las dosis bajas de centaquina usadas para la reanimación de ratas con hemorragia.
- Centaquina (de 0,05 a 0,2 mg/kg, iv) produjo una disminución dependiente de la dosis en la presión arterial media (PAM) y frecuencia cardíaca (FC) en ratas anestesiadas con uretano y gatos y ratas conscientes que se mueven libremente (Srimal, Gulati et al. 1990). Se ha descrito anteriormente evidencia para su sitio central de acción (Gulati, Hussain et al., 1991). La centaquina consistentemente redujo los niveles de lactato en sangre de  $2,42 \pm 0,17$  a  $1,25 \pm 0,55$  mg/dl en ratas normales, y se ha establecido que la posibilidad de hiperlactatemia por análisis de regresión logística es 4,6 (intervalo de confianza del 95% 1,4-15;  $p < 0,05$ ) veces mayor para un paciente con perfusión periférica anómala (Lima, Jansen et al. 2009). Los niveles de lactato elevados se asocian con un pronóstico peor

para pacientes de traumatismo. La distribución inadecuada de oxígeno, demanda desproporcionada de oxígeno, y uso disminuido de oxígeno pueden producir niveles de lactato elevados. El seguimiento del lactato en sangre se recomienda en marcos de cuidados críticos y claramente tiene un lugar en la estratificación por riesgo de pacientes gravemente enfermos (Jansen, van Brommel et al. 2009). Puesto que la centaquina reduce los niveles de lactato en sangre, proporciona un efecto reanimador en choque hemorrágico.

Agmatina, una sustancia endógena que actúa en sitios similares al agente  $\alpha_2$  adrenérgico clonidina, también se encontró que es un agente reanimador eficaz en ratas con hemorragia. El efecto reanimador de agmatina se bloqueó por completo por yohimbina lo que indica la implicación de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos (Gill, Pelit et al. 2011). Disminuyendo el flujo simpático del sistema nervioso central, se produce una disminución en la resistencia vascular sistémica y un aumento en el gasto cardiaco y perfusión de órgano final. La centaquina también tiene actividad simpaticolítica central (Murti, Bhandari et al. 1989, Srimal, Gulati et al. 1990) y puede reducir la vasoconstricción causada por un aumento en el impulso simpático después de choque hemorrágico. Por tanto, la centaquina aumenta el gasto cardiaco y mejora la circulación de la sangre regional mediante su acción simpaticolítica, protegiendo de esta manera los órganos de insuficiencia en choque hemorrágico. El aumento en el gasto cardiaco inducido por centaquina era mucho más pronunciado comparado con una disminución en la resistencia vascular sistémica. Por tanto, la acción simpaticolítica central de centaquina es menos prominente a las dosis bajas usadas para reanimación, y es principalmente un aumento en el gasto cardiaco lo que contribuye a la circulación mejorada de la sangre y supervivencia de ratas con hemorragia.

#### Efecto reanimador de centaquina en choque hemorrágico

Se usó un modelo en roedor de hemorragia a presión fija sin traumatismo tisular en un estudio preliminar. Este modelo de hemorragia se hizo más grave manteniendo la hipotensión durante 30 min desde el inicio de la hemorragia para alcanzar una deficiencia de base de más de  $-12$  mEq/l (Gulati, Sen et al. 1997). El hematocrito disminuyó como resultado de pérdida de sangre y era similar en todos los grupos sometidos a reanimación. Se estudiaron los siguientes grupos: Solución de Ringer con lactato (RL-100) (100% del volumen de sangre derramada (SBV)), o centaquina (base libre) (0,017, 0,05 y 0,15 mg/kg) disuelta en RL (100% SBV), o RL-300 (300% SBV). Se encontró que el tiempo de supervivencia después de la reanimación con RL-100 fue  $78 \pm 10$  min. Centaquina en dosis de 0,017 y 0,05 mg/kg significativamente mejoró el tiempo de supervivencia a  $291 \pm 57$  y  $387 \pm 39$  min, respectivamente. Los niveles de lactato en sangre (mmol/l) aumentaron de  $7,22 \pm 0,67$  en hemorragia a  $10,20 \pm 0,61$  a los 60 min después de la reanimación con RL-100. Por otra parte, los niveles de lactato en sangre disminuyeron significativamente a  $3,55 \pm 0,07$  y  $4,08 \pm 0,28$  a los 60 min después de la reanimación con dosis de 0,017 y 0,05 mg/kg de centaquina, respectivamente. La centaquina en dosis de 0,017 y 0,05 mg/kg produjo un aumento del 55% y el 59% en la PAM, respectivamente, comparado con una disminución del 29% por RL-100. Se observó una disminución en la resistencia vascular sistémica del 57% y el 41% con dosis de 0,017 y 0,05 mg/kg de centaquina, comparado con una disminución del 6% por RL-100. El gasto cardiaco disminuyó el 28% con RL-100, mientras que dosis de 0,017 y 0,05 mg/kg de centaquina aumentaron el gasto cardiaco en el 260% y el 180%, respectivamente. Comparado con RL-300, la centaquina (0,05 mg/kg) mejoró el tiempo de supervivencia, aumentó el gasto cardiaco, y era más eficaz en la reanimación de ratas con hemorragia. Por tanto, se encontró que centaquina era un agente de reanimación muy eficaz para el tratamiento de choque hemorrágico en rata.

Previamente se encontró que la solución salina hipertónica tenía un efecto reanimador en ratas con hemorragia. Se ha encontrado ahora que centaquina aumenta marcadamente el efecto reanimador de la solución salina hipertónica. Centaquina disminuyó significativamente el lactato en sangre, y aumentó la PAM y gasto cardiaco comparado con solución salina hipertónica sola. Centaquina aumentó el tiempo de supervivencia de ratas con hemorragia comparado con tratamiento con solución salina hipertónica. La mediana del tiempo de supervivencia para un índice de supervivencia del 50% de ratas tratadas con solución salina hipertónica fue  $137 \pm 12$  minutos, mientras que para ratas tratadas con centaquina fue  $375 \pm 25$  minutos. La fracción de supervivencia a 250 min fue 0 cuando se reanimaron con solución salina hipertónica, mientras que el tratamiento con centaquina mejoró la fracción de supervivencia a 0,8. Incluso a 480 min después de la reanimación con centaquina, la fracción de supervivencia era 0,2. Las ratas tratadas con dosis de 0,017 mg/kg de centaquina tuvieron el máximo tiempo de supervivencia comparado con otros grupos. Los descubrimientos del presente estudio son novedosos, inesperados y son importantes debido a artículos recientes de estudios clínicos grandes que muestran que la solución salina hipertónica no tiene beneficio sobre la solución salina normal en pacientes con choque hipovolémico o lesión cerebral traumática grave (Bulger, May et al. 2010; Bulger, May et al. 2011). Los presentes resultados demuestran que centaquina puede aumentar el efecto reanimador de la solución salina hipertónica en el tratamiento de tales afecciones.

#### Efecto de centaquina sobre hemodinámica sistémica en choque hemorrágico

La centaquina produjo un aumento significativo en el gasto cardiaco y aumento de un incremento en gasto cardiaco inducido por solución salina hipertónica de ratas con hemorragia. Apoyando este descubrimiento está la observación de que centaquina produce un efecto inotrópico positivo y aumenta las contracciones ventriculares de corazón de conejo perfundido aislado con un aumento en la liberación de norepinefrina (Bhatnagar, Pande et al. 1985).

La reanimación hipotensiva se ha sugerido como una alternativa al estándar de cuidado actual, es decir, producir un aumento limitado en la presión sanguínea, que produce menos uso de líquidos de reanimación y productos sanguíneos. Las indicaciones son que esta es una estrategia segura para uso en pacientes de traumatismo (Morrison, Carrick et al. 2011). En un estudio experimental, se encontró que una presión sanguínea diana de 50-60 mmHg era ideal para el tratamiento de choque hemorrágico (Li, Zhu et al. 2011). La reanimación inducida por centaquina produjo un aumento en la presión sanguínea que estaba bien por debajo de la basal de 95 mmHg, es decir, un incremento máximo en presión sanguínea después de la reanimación con centaquina era aproximadamente de 65 a 75 mmHg. Por tanto, la presión sanguínea aumentó en el intervalo sugerido que era ideal para choque hemorrágico después de reanimación con centaquina. Las tres dosis de centaquina usadas en estos estudios produjeron efectos reanimadores similares, indicando una ventana de seguridad amplia. En un estudio reciente, se determinó la cantidad de norepinefrina (NE) requerida para mantener la PAM a 70 mmHg en ratas tratadas con solución salina normal (SN) o centaquina (0,05 mg/kg) (volumen igual a la pérdida de sangre). El hematocrito sanguíneo disminuyó después de la hemorragia y era similar en todos los grupos. El lactato en sangre era  $4,10 \pm 1,02$  mmol/l en SN comparado con  $1,65 \pm 0,23$  mmol/l en centaquina ( $P=0,041$ ), 60 min después de la reanimación. La cantidad de NE necesaria en cada rata para mantener la PAM a 70 mmHg fue 175  $\mu$ g en SN y 17,5  $\mu$ g en el grupo de centaquina durante los primeros 60 min de reanimación. Se encontró que centaquina era un agente de reanimación muy eficaz disminuyendo el requisito de NE en ratas con hemorragia.

#### Mecanismo de acción

Los efectos cardiovasculares de centaquina resultan de su acción en receptores  $\alpha$  adrenérgicos en el sistema nervioso simpático, el corazón, y la vasculatura. Hay dos tipos principales de receptores adrenérgicos  $\alpha$  y  $\beta$ ; que se subdividen en receptores adrenérgicos  $\alpha_1$  ( $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$  y  $\alpha_{1D}$ ) y  $\alpha_2$  ( $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$  y  $\alpha_{2C}$ ); y  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$  (Bylund, Eikenberg et al. 1994). En un experimento preliminar, se encontró que algunos de los efectos farmacológicos de centaquina se pudieron bloquear por yohimbina que es un antagonista selectivo del receptor  $\alpha_2$  adrenérgico (Timmermans y Van Zwieten 1980; Sharma y Gulati 1995; Andurkar y Gulati 2011). Por tanto, se investigó la implicación de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos en el efecto reanimador de centaquina.

La siguiente tabla muestra el efecto de centaquina en hematocrito sanguíneo arterial, pH, gases en sangre, electrolitos y niveles de lactato en presencia y ausencia de los antagonistas  $\alpha_2$  adrenérgicos específicos yohimbina y atipamezol. Tanto yohimbina como atipamezol antagonizaron el efecto reanimador de centaquina lo que indica que los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos están implicados en el efecto reanimador de centaquina. Se usaron dos bloqueantes diferentes de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos, atipamezol que es una molécula pequeña (Virtanen, Savola et al. 1989) y yohimbina que es un alcaloide complejo grande (Sharma y Gulati 1995, Kovacs y Hernandi 2003), y ambos antagonistas bloquearon por completo el efecto reanimador de centaquina, confirmando que los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos están implicados en la reanimación por centaquina. Por tanto, se puede concluir que fármacos que estimulan los receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos son útiles en el tratamiento de choque. Un aumento en la presión sanguínea que se desarrolló tras la administración de centaquina está, por tanto, principalmente dirigido por la activación de receptores  $\alpha_2$  adrenérgicos vasculares. Los datos farmacológicos indican que esta actividad resulta de una respuesta de tipo agonista que lo más probable se debe a la acción sobre receptores adrenérgicos  $\alpha_{2B}$  y  $\alpha_{2C}$  (Vacher, Funes et al. 2010).

Parámetros	Tratamiento	Basal	Hemorragia	Reanimación 30 min	Reanimación 60 min	Reanimación 120 min
Hematocrito	Vehículo + Centaquina	54,67 $\pm$ 2,03	37,67 $\pm$ 2,33	33,00 $\pm$ 1,53	32,67 $\pm$ 1,76	33,67 $\pm$ 2,03
	Yohimbina + Centaquina	50,00 $\pm$ 1,26	35,60 $\pm$ 1,50	30,75 $\pm$ 1,38	31,50 $\pm$ 0,50	
	Atipamezol + Centaquina	48,80 $\pm$ 1,66	36,20 $\pm$ 2,44	31,80 $\pm$ 1,96	29,00 $\pm$ 4,00	
pH	Vehículo + Centaquina	7,34 $\pm$ 0,01	7,24 $\pm$ 0,02	7,29 $\pm$ 0,01	7,31 $\pm$ 0,01	7,28 $\pm$ 0,01
	Yohimbina + Centaquina	7,34 $\pm$ 0,01	7,22 $\pm$ 0,02	7,19 $\pm$ 0,02*	7,14 $\pm$ 0,05*	
	Atipamezol + Centaquina	7,36 $\pm$ 0,00	7,23 $\pm$ 0,03	7,25 $\pm$ 0,03	7,26 $\pm$ 0,01	
pCO <sub>2</sub>	Vehículo + Centaquina	46,33 $\pm$ 1,67	27,33 $\pm$ 1,20	33,00 $\pm$ 0,58	33,33 $\pm$ 0,33	29,00 $\pm$ 1,15
	Yohimbina + Centaquina	42,80 $\pm$ 1,32	26,60 $\pm$ 1,83	30,50 $\pm$ 0,96	35,00 $\pm$ 1,00	
	Atipamezol + Centaquina	41,60 $\pm$ 1,91	26,60 $\pm$ 2,06	28,80 $\pm$ 1,98	30,50 $\pm$ 1,50	
pO <sub>2</sub>	Vehículo + Centaquina	118,33 $\pm$ 6,77	124,00 $\pm$ 4,73	124,00 $\pm$ 4,51	121,67 $\pm$ 4,63	132,00 $\pm$ 6,69

	Yohimbina + Centaquina	106,40±2,11	127,80±5,76	146,25±5,66	117,00±8,00	
	Atipamezol + Centaquina	97,20±1,02	113,60±4,20	116,80±2,35	115,50±6,50	
Na+	Vehículo + Centaquina	134,33±0,88	124,33±1,86	130,00±0,08	128,00±1,00	130,33±0,33
	Yohimbina + Centaquina	130,60±6,95	120,60±4,56	125,75±2,90	126,00±2,00	
	Atipamezol + Centaquina	141,40±2,23	129,80±1,85	133,60±0,68	134,50±0,50	
K+	Vehículo + Centaquina	2,73±1,07	5,73±0,30	4,73±0,09	4,60±0,00	5,17±0,15
	Yohimbina + Centaquina	3,58±0,13	6,09±0,42	5,33±0,17	5,15±0,15	
	Atipamezol + Centaquina	3,46±0,26	5,90±0,25	4,94±0,09	4,80±0,20	
Ca++	Vehículo + Centaquina	1,15±0,02	1,22±0,00	1,17±0,02	1,18±0,03	1,18±0,01
	Yohimbina + Centaquina	1,10±0,04	1,21±0,05	1,18±0,01	1,23±0,01	
	Atipamezol + Centaquina	1,09±0,04	1,22±0,02	1,18±0,01	1,19±0,04	
Lactato	Vehículo + Centaquina	3,17±0,24	10,10±0,70	5,80±0,32	4,53±0,38	5,67±0,22
	Yohimbina + Centaquina	3,06±0,22	10,34±1,50	9,25±0,33*	8,40±0,80*	
	Atipamezol + Centaquina	3,06±0,23	10,76±0,43	8,56±0,68*	7,75±1,05*	

Según esto, agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos diferentes de centaquina son capaces de mejorar el gasto cardiaco, perfusión de órganos, y oxigenación de tejidos, y son útiles en el tratamiento de enfermedades y afecciones en las que estas mejoras proporcionan un beneficio.

5 Los ratones deficientes en receptores adrenérgicos  $\alpha_{2A}$ , y  $\alpha_{2C}$  se desarrollaron normalmente y solo la delección adicional del gen  $\alpha_{2B}$  produjo defectos placentarios (Philipp, Brede et al. 2002). Los ratones que carecen de los tres subtipos  $\alpha_2$  no sobrevivieron más allá de 11,5 días de desarrollo embrionario debido al defecto en la formación de vasos sanguíneos fetales en el saco vitelino y la placenta (Philipp, Brede et al. 2002). Los ratones con inactivación selectiva de receptores  $\alpha_{2B}$  son resistentes al desarrollo de hipertensión sensible a sal (Makaritsis, Handy et al. 1999; Makaritsis, Johns et al. 2000). En centros vasomotores centrales los subtipos de receptor  $\alpha_{2A}$  son los más abundantes y producen una caída de larga duración en la presión sanguínea y un aumento en la norepinefrina en plasma (Tavares, Handy et al. 1996; Altman, Trendelenburg et al. 1999; Hein, Altman et al. 1999). Por tanto, los receptores adrenérgicos tanto  $\alpha_{2A}$  como  $\alpha_{2B}$  regulan la presión sanguínea, pero los efectos son opuestos. La activación de los receptores  $\alpha_{2A}$  centrales disminuye la presión sanguínea al disminuir la actividad simpática, y la estimulación de receptores  $\alpha_{2B}$  centrales contribuye al desarrollo de aumento simpático mediado por sal en la presión sanguínea (Gavras, Manolis et al. 2001). Se teoriza que, a dosis menores, la centaquina actúa más sobre los receptores adrenérgicos  $\alpha_{2B}$  y  $\alpha_{2C}$  para producir su efecto reanimador. Sin embargo, a dosis mayores, la acción de centaquina sobre los receptores  $\alpha_{2A}$  adrenérgicos predomina, lo que produce efectos antihipertensivos.

#### Choque séptico

25 La septicemia y el choque séptico siguen siendo un desafío principal y contribuyen a mortalidad significativa que representa el 9,3% de muertes (Angus, Linde-Zwirble et al. 2001). El número de hospitalizaciones por septicemia grave por 100.000 personas aumentó de 143 en 2000 a 343 en 2007 (Kumar, Kumar et al. 2011). La septicemia grave se asocia con el desarrollo de choque séptico que produce distribución insuficiente de oxígeno a órganos y tejidos que da como resultado daño celular, disfunciones de órganos múltiples y, por último, la muerte.

30 La medida objetiva del flujo de sangre sistémica sigue siendo muy desafiante. Indicadores importantes de insuficiencia circulatoria son presión sanguínea, frecuencia cardiaca, producción de orina, tiempo de recarga de capilares, concentración de lactato en sangre, diferencia de temperatura central-periférica, pH, exceso de base estándar, saturación de oxígeno venoso central, y color (de Boode 2010). En el choque séptico, se recomienda la infusión de grandes volúmenes de líquidos para la reanimación inicial (Brierley, Carcillo et al. 2009). La acidosis metabólica y deficiencia de base debido a la acumulación de ácido láctico como resultado de mala distribución de oxígeno a los tejidos sirve como un indicador de la gravedad del choque. Los niveles de lactato están elevados en pacientes gravemente enfermos con septicemia y choque, y los niveles de acetato parecen ser un indicador importante del desenlace. Estudios previos han documentado niveles de lactato elevados en el modelo en rata de

choque endotóxico y choque hemorrágico, y niveles mayores parecen correlacionarse con mayor mortalidad a corto plazo (Gonzales, Chen et al. 2008; Sakai, Horinouchi et al. 2009).

La centaquina es un agente cardiovascular activo que actúa como un agente simpaticolítico que actúa centralmente. Como se ha divulgado anteriormente, la centaquina consistentemente redujo los niveles de lactato en sangre de  $2,42 \pm 0,17$  a  $1,25 \pm 0,55$  mg/dl en ratas normales. En experimentos previos, la centaquina prolongó la supervivencia en un modelo hemorrágico de choque y se asoció con reducción en los niveles de lactato en sangre (Gulati, Lavhale et al. 2012). Tanto el choque hemorrágico como el choque séptico se asocian con respuesta de estrés con la liberación de epinefrina y activación de cascada inflamatoria e insuficiencia de órganos multisistema final (Cai, Deitch et al. 2010).

Puesto que la centaquina es un agente de reanimación eficaz, la centaquina también es un agente útil en estados de choque séptico donde mejora la perfusión de sangre regional y reduce la hiperactivación del sistema nervioso simpático debido a choque endotóxico.

La figura 14 ilustra la eficacia a una dosis baja de citrato de centaquina en el tratamiento de choque séptico. En las pruebas resumidas en la figura 14, ratas anestesiadas se inmovilizaron en una tabla quirúrgica y se hizo una incisión por encima de la vena y arteria femorales. Los vasos se limpiaron y aislaron. Se midieron la frecuencia cardiaca y la presión arterial media canulando la arteria femoral izquierda con el transductor de presión SPR-320 (Millar Instruments), conectado a un amplificador en puente ML221 (AD Instruments) mediante un conector AEC-10C y las señales se adquirieron ( $1000 \text{ S}^{-1}$ ) usando PowerLab 16/30. Las venas femorales izquierdas se aseguraron para la administración de fármacos usando tubos PE 50 (Clay Adams, Parsipanny, NJ). La arteria femoral derecha se canuló para extracciones de sangre usando tubos PE 50 (Clay Adams, Parsipanny, NJ). Después de completar la cirugía los animales se mantuvieron en un estado estacionario durante 30 minutos antes de la administración de lipopolisacárido (LPS). Se indujo choque endotóxico por la inyección intravenosa de LPS de *E. coli* O111:B4 (Sigma Chemical, St. Louis, MO) disuelto a una concentración de 10 mg en 0,1 ml de solución salina normal y se administró una dosis de 30 mg/kg. Se realizó la reanimación (R) o bien con vehículo (solución salina) o con citrato de centaquina (0,05 mg/kg). La rata tratada con vehículo tiene una presión sanguínea menor comparada con la rata tratada con centaquina. La rata tratada con vehículo murió después de 270 min, en donde la rata tratada con centaquina sobrevivió a 360 min y tuvo que ser sacrificada al final del experimento. La dosis de 0,05 mg/kg de citrato de centaquina en rata se traduce en aproximadamente una dosis de 0,01 mg/kg en seres humanos. Estos resultados claramente muestran los beneficios de los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos, tal como centaquina y citrato de centaquina, en el tratamiento de choque séptico.

### Síndrome de choque por dengue

Unos 2,5 mil millones de personas estimadas en el mundo están en riesgo de infección por dengue, de las cuales aproximadamente 975 millones de personas viven en áreas urbanas en países tropicales y subtropicales en el Sudeste de Asia, el Pacífico y América (Guzman, Halstead et al. 2010). Se estima que cada año se producen más de 50 millones de infecciones, incluyendo 500.000 hospitalizaciones por fiebre hemorrágica del dengue, principalmente entre niños, de las que aproximadamente el 5% son letales (Guzman y Kouri 2002; Gubler 2004; Guzman e Isturiz 2010; Guzman, Halstead et al. 2010; San Martin, Brathwaite et al. 2010). El número de casos de dengue informados a la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha aumentado drásticamente en los últimos años. Para el periodo 2000-2004, la media anual fue 925.896 casos, casi duplica la cifra de 479.848 casos que se describió para el periodo 1990-1999. En 2001, un récord de 69 países informó de actividad de dengue a la OMS.

La fiebre hemorrágica del dengue y el síndrome de choque por dengue son causas principales de morbilidad y mortalidad infantil en varios países tropicales (Dung, Day et al. 1999). El choque relacionado con dengue resulta de la filtración capilar de líquidos intravasculares, electrolitos y pequeñas proteínas en tejidos perivasculares produciendo efusiones pleurales y pericardiacas, disminuyendo la presión sanguínea, perfusión tisular baja y oliguria (Morens y Fauci 2008). A pesar de la hidratación normal, el desarrollo del choque se puede predecir por un hematocrito que aumenta gradualmente durante un periodo de varias horas. La reanimación con líquido para contrarrestar la filtración masiva de plasma es el principal tratamiento.

En un estudio aleatorizado, enmascarado de 230 pacientes en niños con síndrome de choque por dengue, se llevó a cabo una comparación entre dextrano, gelatina, Ringer con lactato y solución salina normal para la reanimación inicial. Todos los niños sobrevivieron y no hubo ventaja clara de usar un líquido sobre otro (Premaratna, Liyanaarachchi et al. 2011). Se encontró que la presión diferencial era el factor más significativo que determina la respuesta clínica de los pacientes (Premaratna, Liyanaarachchi et al. 2011). En otro estudio realizado en 383 pacientes, se observó que la solución de Ringer con lactato era el tratamiento de elección en las fases iniciales en niños con síndrome de choque por dengue moderadamente grave (Wills, Nguyen et al. 2005). En un estudio de revisión de gráficos retrospectivo, se encontró que el tratamiento agresivo del choque tiende a disminuir los índices de mortalidad en las formas más graves de síndrome de choque por dengue (Ranjit, Kisoon et al. 2005). En un estudio realizado en noventa y un niños con infección por virus del dengue demostrada serológicamente o por PCR, se encontró que la fracción de expulsión ventricular izquierda y el gasto cardiaco eran significativamente menores en pacientes con síndrome de choque por dengue comparado con pacientes de fiebre hemorrágica del dengue sin

choque (Khongphatthanayothin, Lertsapcharoen et al. 2007). Los pacientes con choque tenían mala función ventricular y requerían reanimación con líquidos intravenosa más agresiva (Khongphatthanayothin, Lertsapcharoen et al. 2007).

5 Por tanto, se puede concluir que los problemas que abordan la elección de líquidos, uso de inótrpos, y técnicas de asistencia a órganos es probable que den beneficios para los pacientes gravemente enfermos de síndrome de choque por dengue (Singhi, Kissoon et al. 2007).

10 Como se ha manifestado anteriormente, la centaquina consistentemente redujo los niveles de lactato en sangre de  $2,42 \pm 0,17$  a  $1,25 \pm 0,55$  mg/dl en ratas normales. Se ha establecido que la probabilidad de hiperlactatemia por análisis de regresión logística es 4,6 (intervalo de confianza al 95% 1,4-15;  $p < 0,05$ ) veces mayor para un paciente con perfusión periférica anómala (Lima, Jansen et al. 2009). Los niveles de lactato elevados se asocian con un pronóstico peor para pacientes de traumatismo. La distribución inadecuada de oxígeno, demanda desproporcionada de oxígeno, y uso disminuido de oxígeno pueden producir niveles de lactato elevados. El seguimiento del lactato en sangre se recomienda en marcos de cuidados críticos y claramente tiene un lugar en la estratificación por riesgo de pacientes gravemente enfermos (Jansen, van Brommel et al. 2009). Puesto que la centaquina reduce los niveles de lactato en sangre, proporciona un efecto reanimador en choque hemorrágico.

20 Usando un modelo en roedor de hemorragia con presión fijada sin traumatismo tisular con una deficiencia de base mayor de  $-12$  mEq/l (Gulati, Singh et al. 1995; Gulati, Sen et al. 1997; Gulati y Sen 1998) se encontró que centaquina aumentaba el efecto reanimador de la solución salina hipertónica. La centaquina significativamente disminuía el lactato en sangre y aumentaba la presión arterial media (PAM), presión diferencial y gasto cardiaco (GC) comparado con solución salina hipertónica sola. La centaquina también disminuía la mortalidad y aumentaba el tiempo de supervivencia de ratas con hemorragia comprado con solución salina hipertónica. En otro estudio, encontramos que los niveles de lactato en sangre (mmol/l) aumentaron desde  $7,22 \pm 0,67$  en hemorragia a  $10,20 \pm 0,61$  a los 60 min después de reanimación con RL, mientras que los niveles de lactato en sangre significativamente disminuían a  $3,55 \pm 0,07$  a los 60 min después de reanimación con centaquina. La centaquina produjo un aumento del 59% en PAM comparado con una disminución del 29% por RL a los 60 min después de la reanimación.

30 Estos datos muestran que centaquina y citrato de centaquina son eficaces en el tratamiento de síndrome de choque por dengue.

35 Para cada una de las formas de realización divulgadas en el presente documento, composiciones farmacéuticas que contienen los agentes activos de la presente invención son adecuadas para la administración a seres humanos u otros mamíferos. Típicamente, las composiciones farmacéuticas son estériles, y no contienen compuestos tóxicos, carcinógenos o mutagénicos que producirían una reacción adversa cuando se administran.

40 El método de la invención se puede lograr usando los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos como se ha descrito anteriormente, o como una sal fisiológicamente aceptable de los mismos. Los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos o sales se pueden administrar como los compuestos puros, o como una composición farmacéutica que contiene cualquiera o ambas entidades.

45 Los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos se pueden administrar por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por administración oral, yugal, inhalación, sublingual, rectal, vaginal, intracisternal mediante punción lumbar, transuretral, nasal, percutánea, es decir, transdérmica, o parenteral (incluyendo intravenosa, intramuscular, subcutánea e intracoronaria). La administración parenteral se puede lograr usando una aguja y jeringa o usando una técnica de alta presión, como POWDERJECT™.

50 Las composiciones farmacéuticas incluyen esas en donde los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos se administran en una cantidad eficaz para alcanzar su fin pretendido. La determinación de la cantidad terapéuticamente eficaz está dentro de la capacidad de los expertos en la materia, especialmente a la luz de la divulgación detallada proporcionada en el presente documento.

55 La formulación exacta, vía de administración, y dosis las determina un médico individual a la vista del estado del paciente. Las cantidades e intervalos de dosis se pueden ajustar individualmente para proporcionar niveles de agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos que sean suficientes para mantener los efectos terapéuticos.

La cantidad de agente  $\alpha_2$  adrenérgico administrado depende del sujeto que se trata, del peso del sujeto, la gravedad de la afección, la manera de administración, y el juicio del médico que receta.

60 Los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos se pueden administrar solos, o en una mezcla con un soporte farmacéutico seleccionado con respecto a la vía de administración pretendida y práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas para uso según la presente invención, por tanto, se pueden formular de una manera convencional usando uno o más soportes fisiológicamente aceptables que comprenden excipientes y auxiliares que facilitan el procesamiento de los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente.

65

Estas composiciones farmacéuticas se pueden fabricar de una manera convencional, por ejemplo, por procesos convencionales de mezclado, disolución, granulación, formación de grajeas, emulsión, suspensión, encapsulación, aprisionamiento, o liofilización. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Cuando se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos por vía oral, la composición típicamente está en forma de un comprimido, cápsula, polvo, solución, o elixir. Cuando se administra en forma de comprimido, la composición puede contener además un soporte sólido, tal como gelatina o un adyuvante. El comprimido, cápsula, y polvo contienen de aproximadamente el 5% a hasta aproximadamente el 95% de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico, y preferiblemente desde aproximadamente el 25% hasta aproximadamente el 90% de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico. Cuando se administra en forma líquida, la forma líquida puede contener cualquier líquido de reanimación conocido en la técnica.

Cuando se administra una cantidad terapéuticamente eficaz de agente  $\alpha_2$  adrenérgico por inyección intravenosa, cutánea o subcutánea, la composición está en forma de una solución acuosa sin pirógenos parenteralmente aceptable. La preparación de tales soluciones parenteralmente aceptables, teniendo debidamente en cuenta el pH, isotonicidad, estabilidad, y similares, está dentro de la capacidad de la técnica. Una composición preferida para inyección intravenosa, cutánea o subcutánea típicamente contiene, además de un agente  $\alpha_2$  adrenérgico, un vehículo isotónico.

Los agentes  $\alpha_2$  adrenérgicos se pueden combinar fácilmente con soportes farmacéuticamente aceptables bien conocidos en la técnica. Tales soportes permiten que los agentes activos se formulen como comprimidos, píldoras, grajeas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, papillas, emulsiones, suspensiones y similares, para la ingestión oral por un paciente que se va a tratar. Las preparaciones farmacéuticas para uso oral se pueden obtener añadiendo el agente  $\alpha_2$  adrenérgico con un excipiente sólido, opcionalmente moliendo la mezcla resultante, y procesando la mezcla de gránulos, después de añadir los auxiliares adecuados, si se desea, para obtener comprimidos o núcleos de grajeas. Los excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, rellenos y preparaciones de celulosa. Si se desea, se pueden añadir agentes disgregantes.

El agente  $\alpha_2$  adrenérgico se puede formular para administración parenteral por inyección, por ejemplo, por inyección embolada o infusión continua. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma farmacéutica unitaria, por ejemplo, en ampollas, viales, o en envases múltiples, con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar tales formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleaginosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación, tal como agentes de suspensión, emulsionantes, estabilizantes y/o disgregantes.

Las composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones acuosas del principio activo en forma soluble en agua. Además, se pueden preparar suspensiones de los principios activos como suspensiones de inyección oleaginosas apropiadas. Los solventes o vehículos lipofílicos adecuados incluyen aceites grasos o ésteres sintéticos de ácidos grasos. Las suspensiones de inyección acuosas pueden contener sustancias que aumentan la viscosidad de la suspensión. Opcionalmente, la suspensión también puede contener estabilizantes adecuados o agentes que aumentan la solubilidad de los compuestos y permiten la preparación de soluciones muy concentradas. Alternativamente, una composición presente puede estar en forma de polvo para constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua sin pirógenos estéril, antes del uso.

Como un aspecto adicional, la invención incluye kits que comprenden uno o más compuestos o composiciones embaladas de una manera que facilita su uso para practicar métodos de la invención. En una forma de realización más sencilla, tal kit incluye un compuesto o composición descrito en el presente documento como útil para la práctica de un método de la invención (es decir, centaquina), embalado en un envase tal como una botella o recipiente sellado, con una etiqueta fijada al envase o incluida en el paquete que describe el uso del compuesto o composición para practicar el método de la invención. Preferiblemente, el compuesto o composición está embalado en una forma farmacéutica unitaria. El kit puede incluir además un dispositivo adecuado para administrar la composición según una vía de administración preferida.

## Referencias

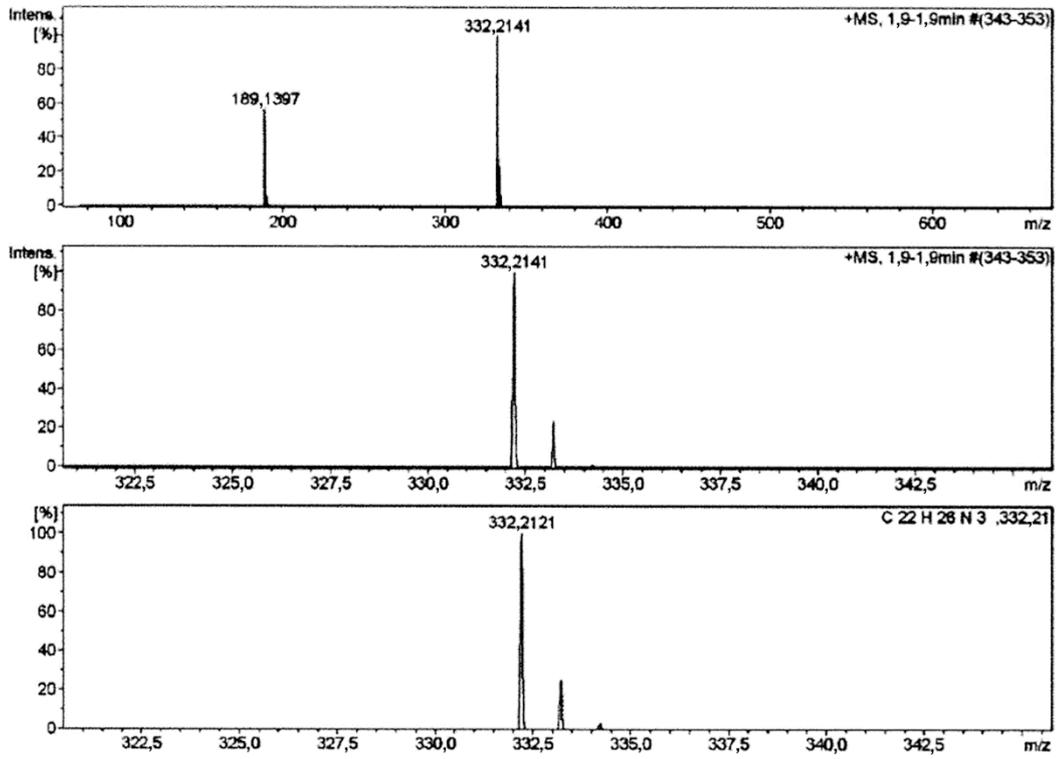
- Acosta et al. (1998). *J Am Coll Surg* 186(5): 528-33.
- Alam et al. (2007). *Surg Clin North Am* 87(1): 55-72, vi.
- Alam, H. B., K. Stanton, et al. (2004). *Resuscitation* 60(1): 91-9.
- Altman, J. D., A. U. Trendelenburg, et al. (1999). *Mol Pharmacol* 56(1): 154-61.
- Andurkar, S. V. y A. Gulati (2011). *Pharmacology* 88(5-6): 233-41.
- Angus, D. C., W. T. Linde-Zwirble, et al. (2001). *Crit Care Med* 29(7): 1303-10.
- Ayuste, E. C., H. Chen, et al. (2006). *J Trauma* 60(1): 52-63.
- Bajpai, U. C., D. C. Gupta, et al. (2000). *J Molecular Structure* 516: 15-21.
- Balogh, Z., B. A. McKinley, et al. (2003). *J Trauma* 54(5): 848-59; discusión 859-61.
- Barcroft, H. y O. G. Edholm (1945). *J Physiol* 104(2): 161-75.
- Bellamy, R. F. (1984). *Mil Med* 149(2): 55-62.
- Bhatnagar, M., M. Pande, et al. (1985). *Arzneimittelforschung* 35(4): 693-7.
- Bickell, W. H., S. P. Bruttig, et al. (1991). *Surgery* 110(3): 529-36.

- Bickell, W. H., S. P. Bruttig, et al. (1992). *Ann Emerg Med* 21(9): 1077-85.
- Bickell, W. H., M. J. Wall, Jr., et al. (1994). *N Engl J Med* 331(17): 1105-9.
- Brierley, J., J. A. Carcillo, et al. (2009). *Crit Care Med* 37(2): 666-88.
- Bulger, E. M., S. May, et al. (2010). *JAMA* 304(13): 1455-64.
- 5 Bulger, E. M., S. May, et al. (2011). *Ann Surg* 253(3): 431-41.
- Bylund, D. B., D. C. Eikenberg, et al. (1994). *Pharmacol Rev* 46(2): 121-36.
- Cai, B., E. A. Deitch, et al. (2010). *Mediators Inflamm* 2010: 642462.
- Carpy, A. y A. K. Saxena (1991). *Acta Crystallographica* C47: 227-229.
- Cavun, S. y W. R. Millington (2001). *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 281(3): R747-52.
- 10 Chappell, D., M. Jacob, et al. (2008). *Anesthesiology* 109(4): 723-40.
- de Boode, W. P. (2010). *Early Hum Dev* 86(3): 137-41.
- Drabek, T., P. M. Kochanek, et al. (2011). *Shock* 35(1): 67-73.
- Dries, D. J. (1996). *Shock* 6(5): 311-6.
- Dubick, M. A., S. P. Bruttig, et al. (2006). *Shock* 25(4): 321-8.
- 15 Dung, N. M., N. P. Day, et al. (1999). *Clin Infect Dis* 29(4): 787-94.
- Engstrom, M., U. Schott, et al. (2006). *J Trauma* 61(3): 624-8.
- Ganster, F., M. Burban, et al. (2010). *Crit Care* 14(5): R165.
- Gavras, I., A. J. Manolis, et al. (2001). *J Hypertens* 19(12): 2115-24.
- Gill, F., T. Pelit, et al. (2011). *Arzneimittelforschung* 61(4): 229-33.
- 20 Gondre, M. y G. J. Christ (1998). *J Pharmacol Exp Ther* 286(2): 635-42.
- Gonzales, E. R., H. Chen, et al. (2008). *J Trauma* 65(3): 554-65.
- Gubler, D. J. (2004). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 27(5): 319-30.
- Gulati, A. (1992). *Life Sci* 50(2): 153-60.
- Gulati, A., G. Hussain, et al. (1991). *Drug Development Research* 23(4): 307-323.
- 25 Gulati, A., M. S. Lavhale, et al. (2012). *J Surg Res* PMID: 22487389.
- Gulati, A. y S. Rebello (1994). *J Lab Clin Med* 124(1): 125-33.
- Gulati, A. y A. P. Sen (1998). *Shock* 9(1): 65-73.
- Gulati, A., A. P. Sen, et al. (1997). *Am J Physiol* 273(2 Pt 2): H827-36.
- Gulati, A., R. Singh, et al. (1995). *J Lab Clin Med* 126(6): 559-70.
- 30 Gulati, A. y R. C. Srimal (1993). *Eur J Pharmacol* 230(3): 293-300.
- Guzman, A. y R. E. Isturiz (2010). *Int J Antimicrob Agents* 36 Supl 1: S40-2.
- Guzman, M. G., S. B. Halstead, et al. (2010). *Nat Rev Microbiol* 8(12 Supl): S7-16.
- Guzman, M. G. y G. Kouri (2002). *Lancet Infect Dis* 2(1): 33-42.
- 35 Hardy, J. F., P. de Moerloose, et al. (2006). *Can J Anaesth* 53(6 Supl): S40-58.
- Hein, L., J. D. Altman, et al. (1999). *Nature* 402(6758): 181-4.
- Henrion, D. e I. Laher (1993). *Hypertension* 22(1): 78-83.
- Heslop, D. J., K. A. Keay, et al. (2002). *Neuroscience* 113(3): 555-67.
- Hierholzer, C., B. Harbrecht, et al. (1998). *J Exp Med* 187(6): 917-28.
- 40 Ho, A. M., M. K. Karmakar, et al. (2001). *J Trauma* 51(1): 173-7.
- Hsia, C. J. y L. Ma (2011). *Artif Organs*.
- Jansen, T. C., J. van Bommel, et al. (2009). *Crit Care Med* 37(10): 2827-39.
- Kauvar, D. S., R. Lefering, et al. (2006). *J Trauma* 60(6 Supl): S3-11.
- Khongphatthanayothin, A., P. Lertsapcharoen, et al. (2007). *Pediatr Crit Care Med* 8(6): 524-9.
- Kovacs, P. e I. Hernadi (2003). *Neuroreport* 14(6): 833-6.
- 45 Kowalenko, T., S. Stern, et al. (1992). *J Trauma* 33(3): 349-53; discusión 361-2.
- Kumar, G., N. Kumar, et al. (2011). *Chest* 140(5): 1223-31.
- Li, T., Y. Zhu, et al. (2011). *Anesthesiology* 114(1): 111-9.
- Lima, A., T. C. Jansen, et al. (2009). *Crit Care Med* 37(3): 934-8.
- 50 Liu, L. M., J. A. Ward, et al. (2003). *Shock* 19(3): 208-14.
- Makaritsis, K. P., D. E. Handy, et al. (1999). *Hypertension* 33(1): 14-7.
- Makaritsis, K. P., C. Johns, et al. (2000). *Hypertension* 35(2): 609-13.
- Malone, D. L., J. R. Hess, et al. (2006). *J Trauma* 60(6 Supl): S91-6.
- Martini, W. Z. y J. B. Holcomb (2007). *Ann Surg* 246(5): 831-5.
- 55 Morens, D. M. y A. S. Fauci (2008). *JAMA* 299(2): 214-6.
- Morrison, C. A., M. M. Carrick, et al. (2011). *J Trauma* 70(3): 652-63.
- Murthi, V. A., P. C. Jain, et al. (1976). patente en EE UU No. 3.983.121.
- Murti, A., K. Bhandari, et al. (1989). *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry* 28(11): 934-942.
- 60 Murti, A., K. Bhandari, et al. (1989). *Indian J Chem* 28B: 934-942.
- Pfeifer, R., P. Kobbe, et al. (2011). *J Orthop Res* 29(2): 270-4.
- Philipp, M., M. E. Brede, et al. (2002). *Nat Genet* 31(3): 311-5.
- Premaratna, R., E. Liyanaarachchi, et al. (2011). *BMC Infect Dis* 11: 52.
- Ranjit, S., N. Kisson, et al. (2005). *Pediatr Crit Care Med* 6(4): 412-9.
- 65 Rhee, P., D. Burris, et al. (1998). *J Trauma* 44(2): 313-9.
- Rhee, P., E. Koustova, et al. (2003). *J Trauma* 54(5 Supl): S52-62.
- Sakai, H., H. Horinouchi, et al. (2009). *Shock* 31(5): 507-14.

- San Martin, J. L., O. Brathwaite, et al. (2010). Am J Trop Med Hyg 82(1): 128-35.
- Santry, H. P. y H. B. Alam (2010). Shock 33(3): 229-41.
- Schadt, J. C. y J. Ludbrook (1991). Am J Physiol 260(2 Pt 2): H305-18.
- Shackford, S. R., R. C. Mackersie, et al. (1993). Arch Surg 128(5): 571-5.
- 5 Sharma, A. C. y A. Gulati (1995). Crit Care Med 23(5): 874-84.
- Singhi, S., N. Kissoon, et al. (2007). J Pediatr (Rio J) 83(2 Supl): S22-35.
- Srimal, R. C., K. Gulati, et al. (1990). Pharmacol Res 22(3): 319-29.
- Srimal, R. C., D. F. J. Mason, et al. (1990). Asia Pac. J. Pharmacol. 5: 185-90.
- Tabuchi, Y., M. Nakamaru, et al. (1989). Biochem Biophys Res Commun 159(3): 1304-8.
- 10 Tavares, A., D. E. Handy, et al. (1996). Hypertension 27(3 Pt 1): 449-55.
- Timmermans, P. B. y P. A. Van Zwieten (1980). Eur J Pharmacol 63(2-3): 199-202.
- Vacher, B., P. Funes, et al. (2010). J Med Chem 53(19): 6986-95.
- Vincenzi, R., L. A. Cepeda, et al. (2009). Am J Surg 198(3): 407-14.
- Virtanen, R., J. M. Savola, et al. (1989). Arch Int Pharmacodyn Ther 297: 190-204.
- 15 Waters, J. M., B. H. Tieu, et al. (2006). J Trauma 61(2): 300-8; discusión 308-9.
- Watts, D. D., A. Trask, et al. (1998). J Trauma 44(5): 846-54.
- Wills, B. A., M. D. Nguyen, et al. (2005). N Engl J Med 353(9): 877-89.
- Wu, D., H. Dai, et al. (2009). Crit Care Med 37(6): 1994-9.
- 20 Zacharias, N., E. A. Sailhamer, et al. (2011). Resuscitation 82(1): 105-9.

**REIVINDICACIONES**

1. Citrato de centaquina para su uso en mejorar el gasto cardiaco, en un individuo que padece choque, en donde el citrato de centaquina está a una dosis de 0,001 mg por kg hasta 0,05 mg por kg de peso del individuo.
2. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 1, en donde el citrato de centaquina se coadministra con un líquido de reanimación seleccionado del grupo que consiste en una solución coloide, una solución cristaloides, sangre, un componente sanguíneo, un sustituto de sangre, y mezclas de los mismos.
3. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 2, en donde la solución coloide o la solución cristaloides se selecciona del grupo que consiste en solución de Ringer con lactato, solución salina, solución salina hipertónica, una solución de albúmina, una solución de dextrano, una solución de gelatina, una solución de hidroxietilalmidón, y una solución de almidón.
4. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 2, en donde el componente sanguíneo se selecciona del grupo que consiste en plasma, glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas, factores de coagulación, proteínas y hormonas.
5. El citrato de centaquina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, en donde el líquido de reanimación se administra en una cantidad de volumen de hasta tres veces un volumen de pérdida de líquido del individuo.
6. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 5, en donde el líquido de reanimación se administra en una cantidad de volumen menor de o hasta un volumen de pérdida de líquido del individuo.
7. El citrato de centaquina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el choque es choque hipovolémico, choque hemorrágico, choque séptico o síndrome de choque por dengue.
8. El citrato de centaquina para su uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, que es un hidrato de citrato de centaquina.
9. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 8, en donde el hidrato es un monohidrato o dihidrato.
10. El citrato de centaquina para su uso según la reivindicación 9, en donde el hidrato es dihidrato.



m/z medido	#	Fórmula	m/z	err [ppm]	err medio [ppm]	rdb	Regla N	e <sup>-</sup>	Conf
332,2141	1	C 22 H 26 N 3	332,2121	-5,9	-6,2	11,5	ok		par

Figura 1(a) – Centaquina

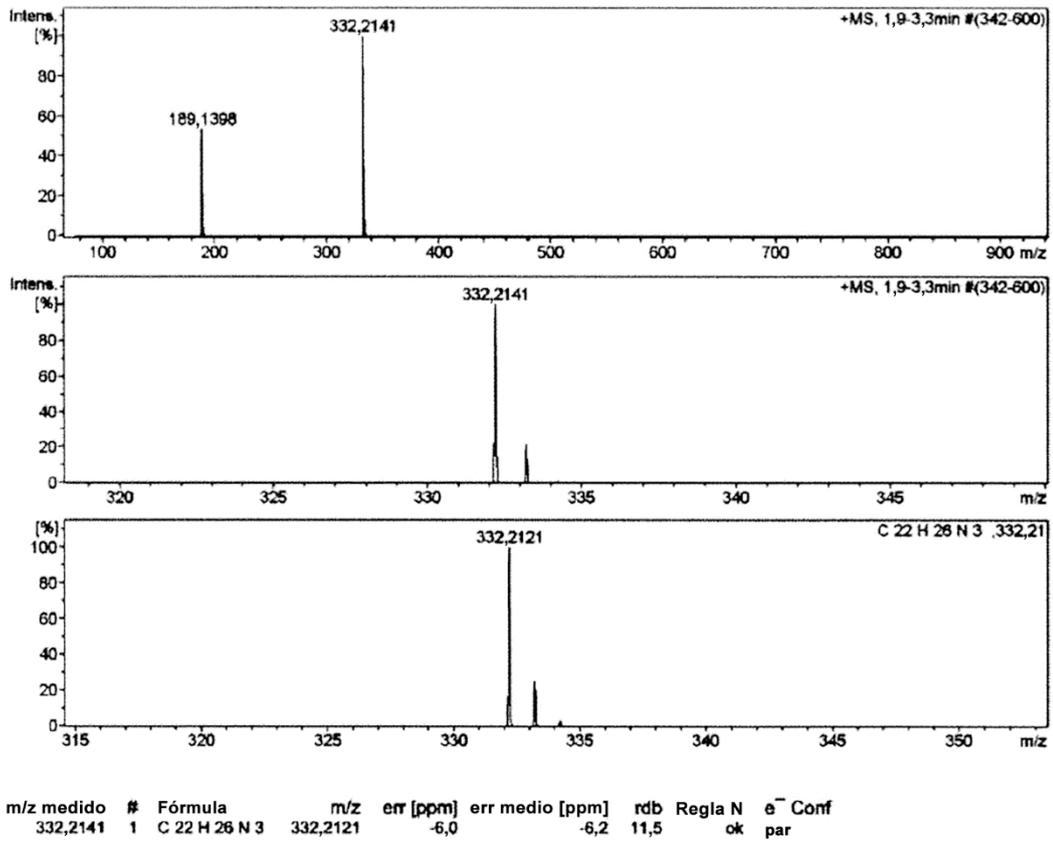


Figura 1(b) – Citrato de centaquina

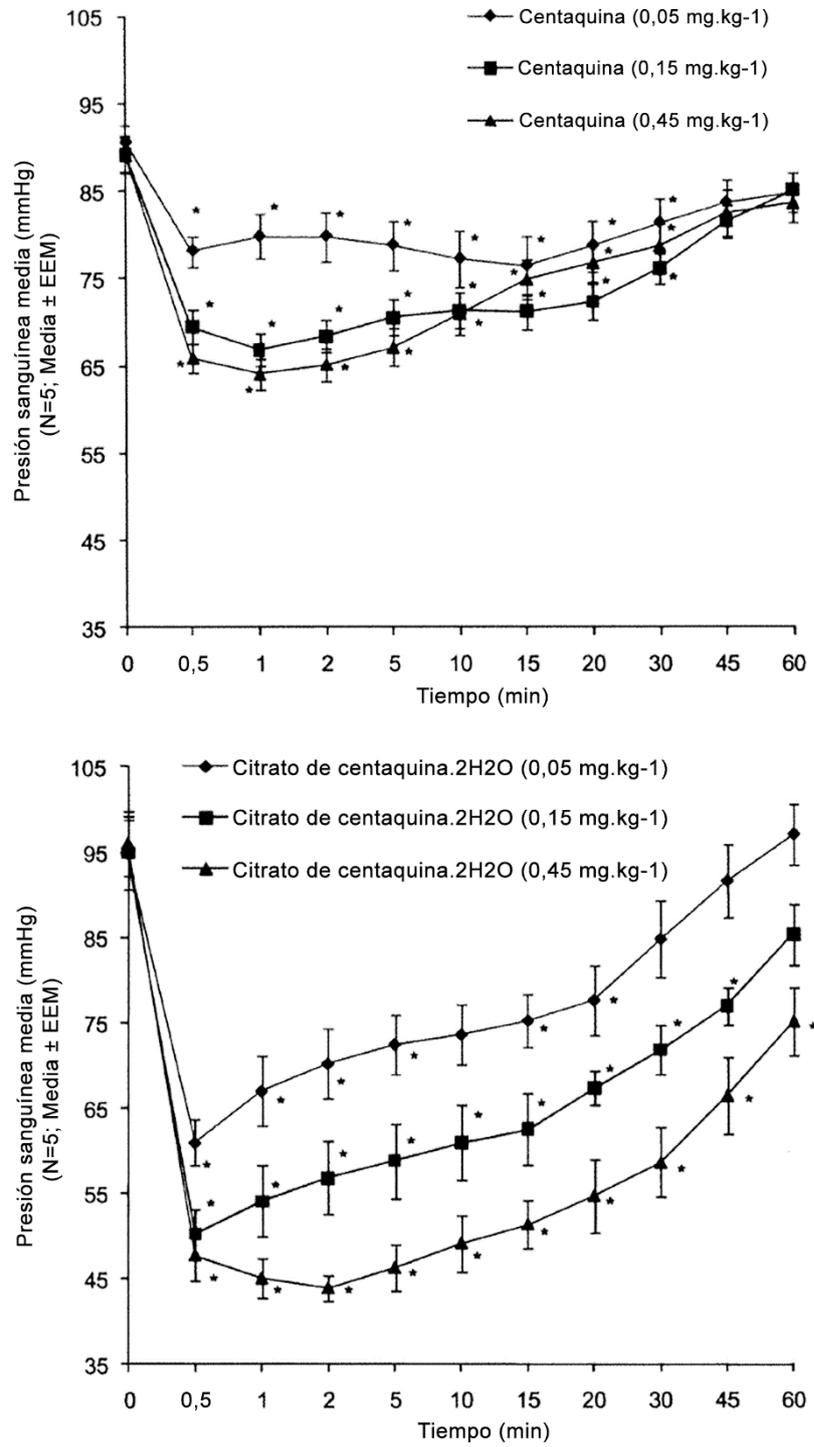


Figura 2

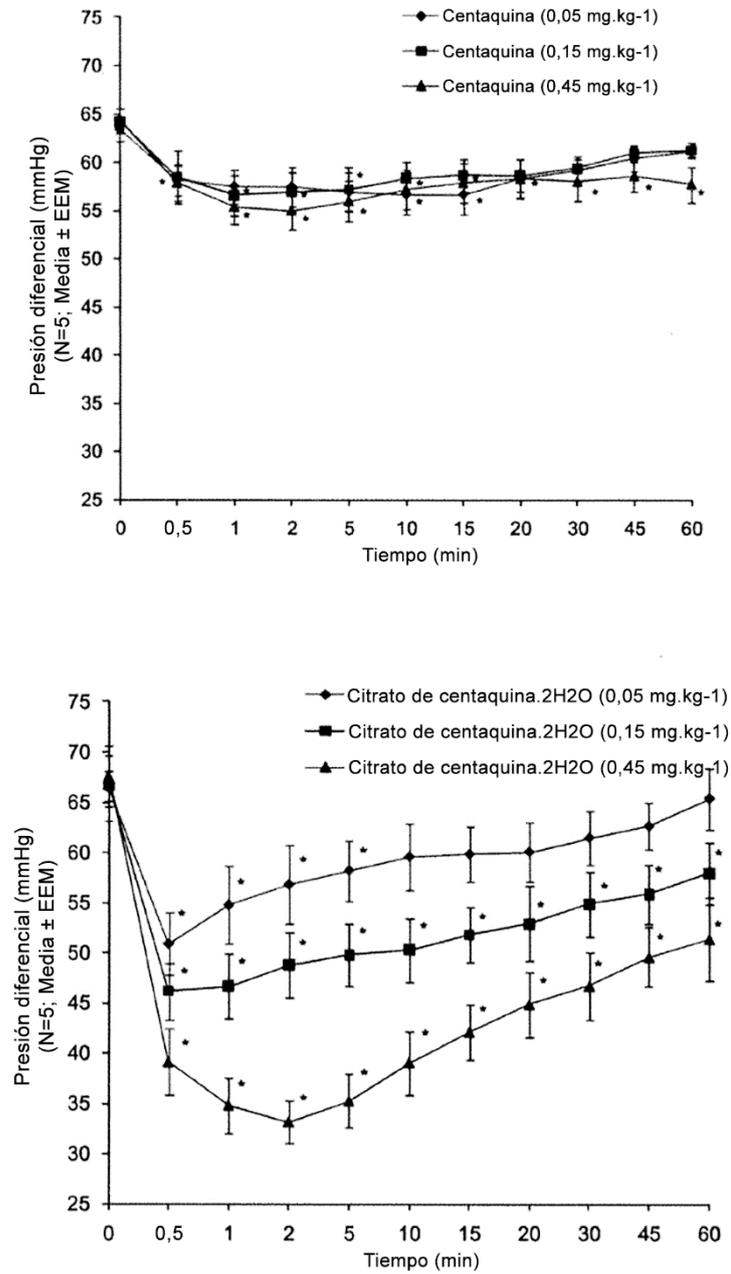


Figura 3

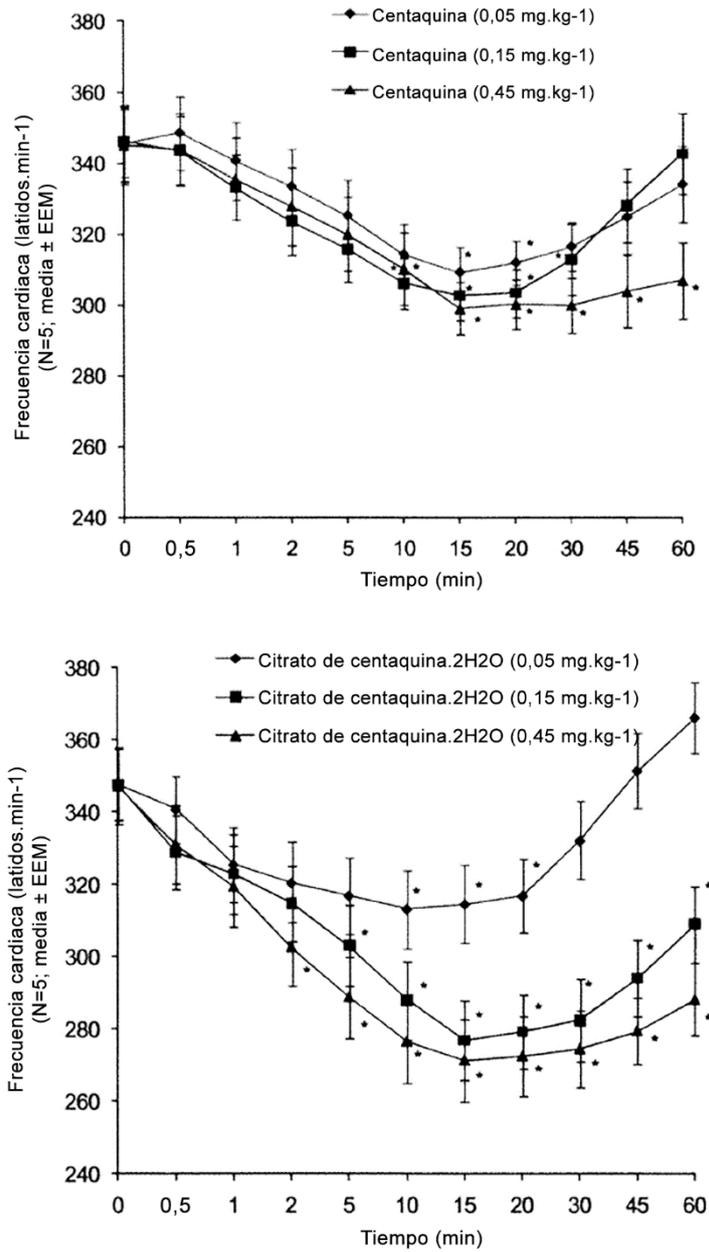


Figura 4

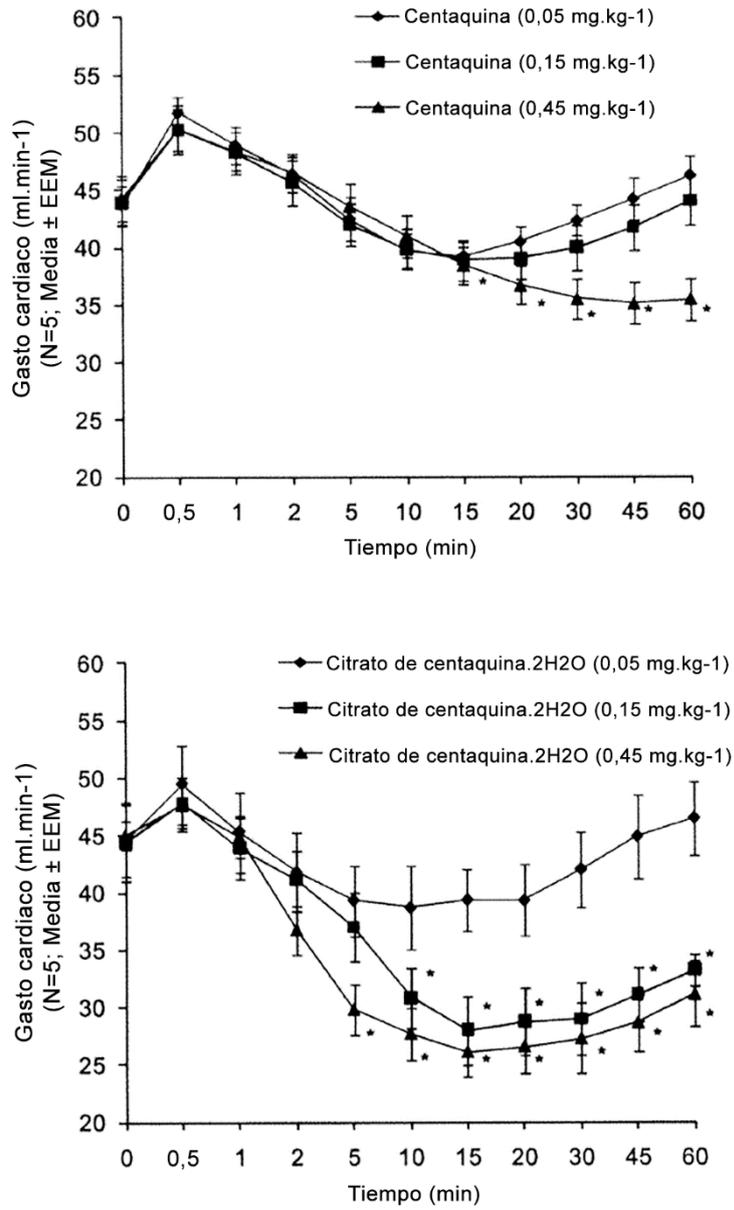


Figura 5

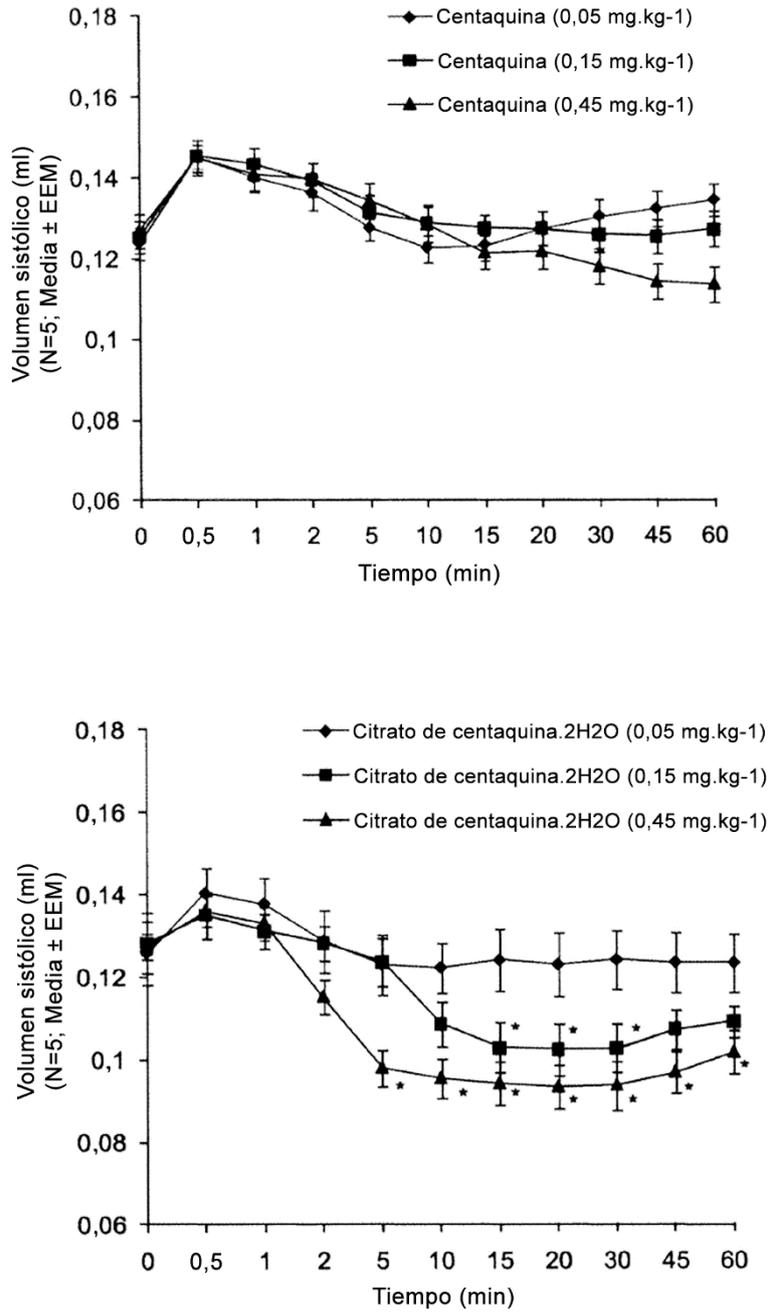


Figura 6

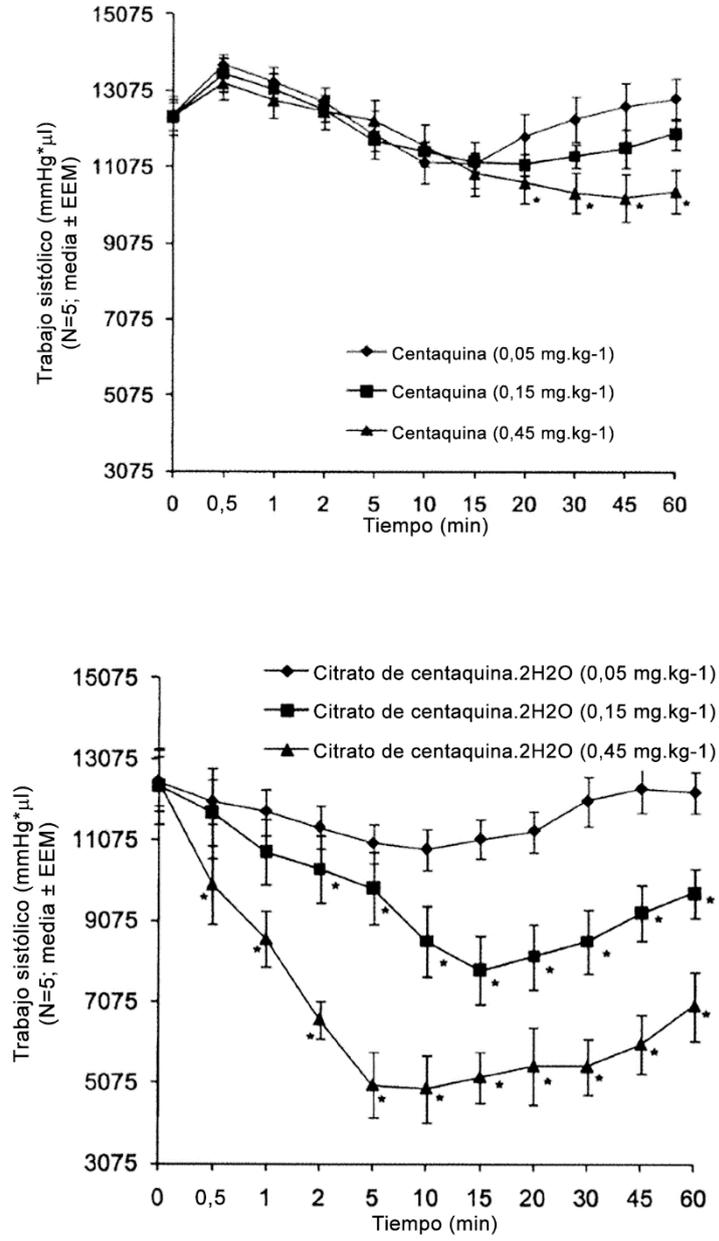


Figura 7

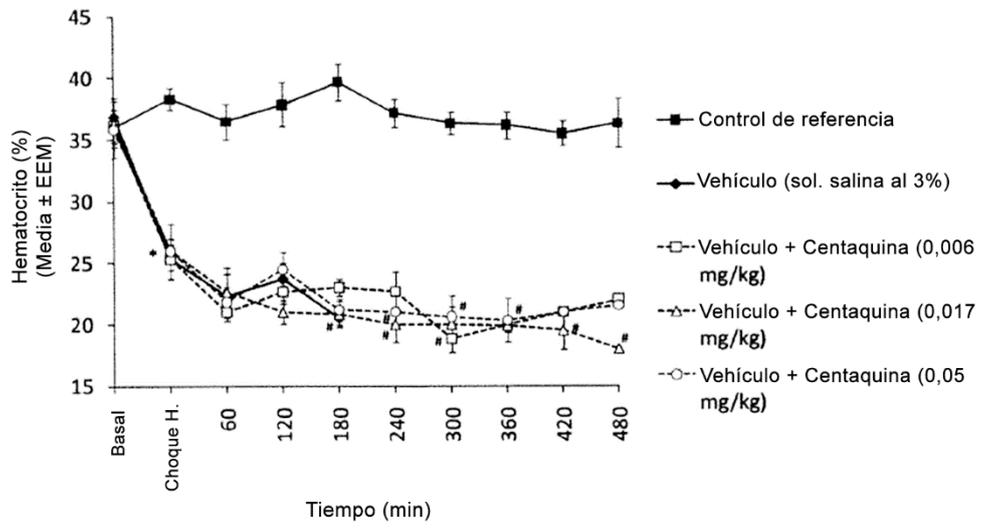


Figura 8

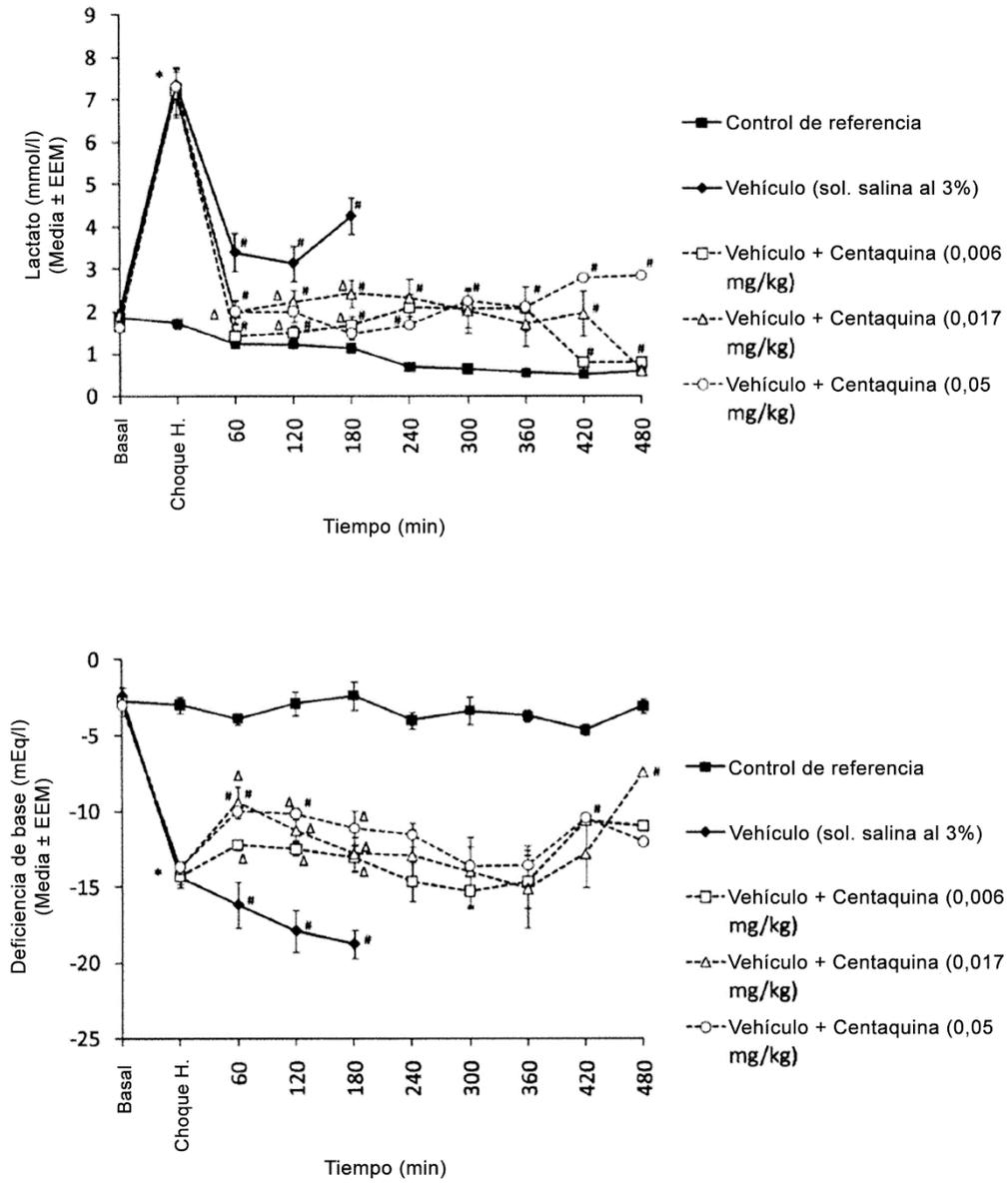


Figura 9

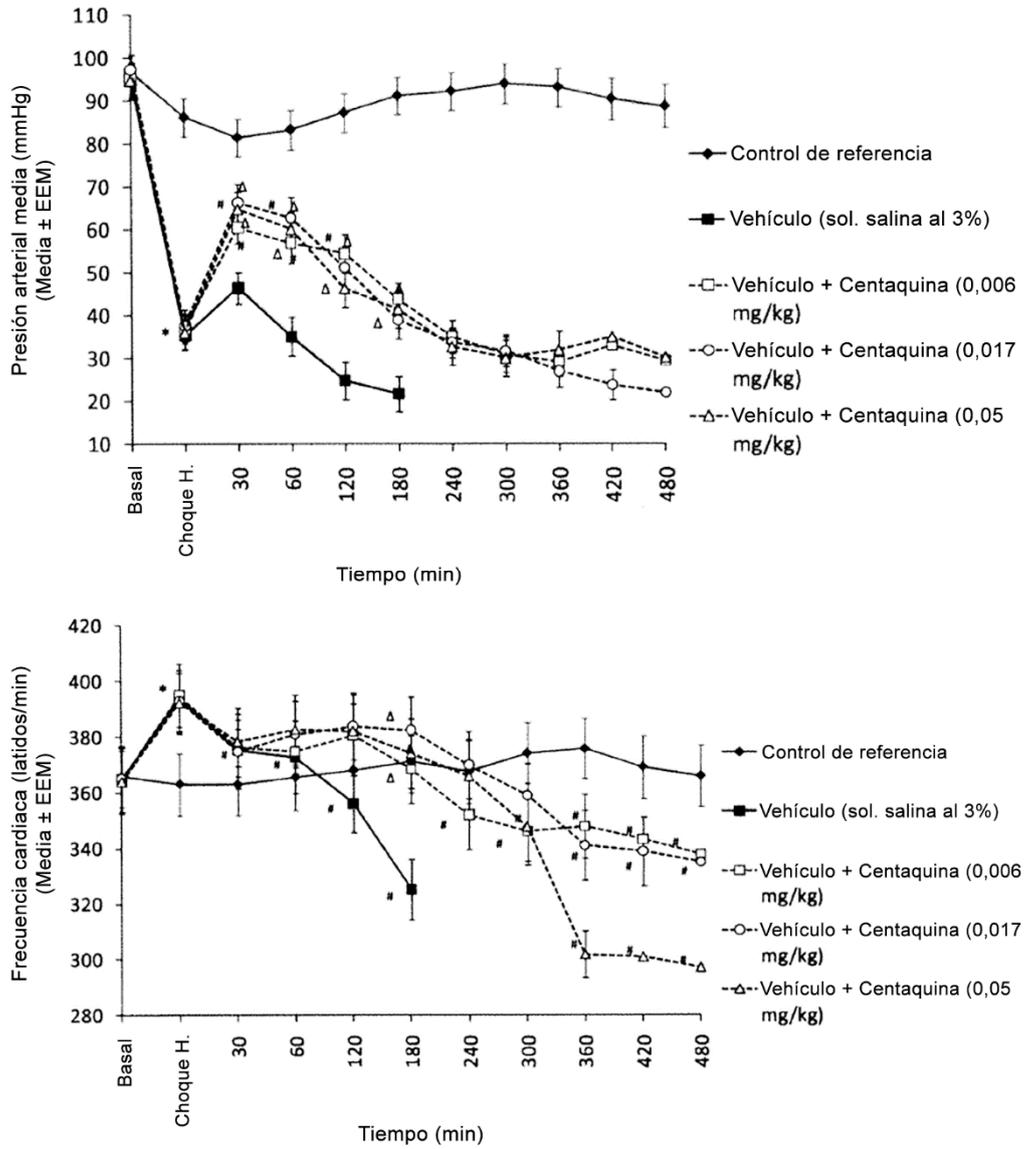


Figura 10

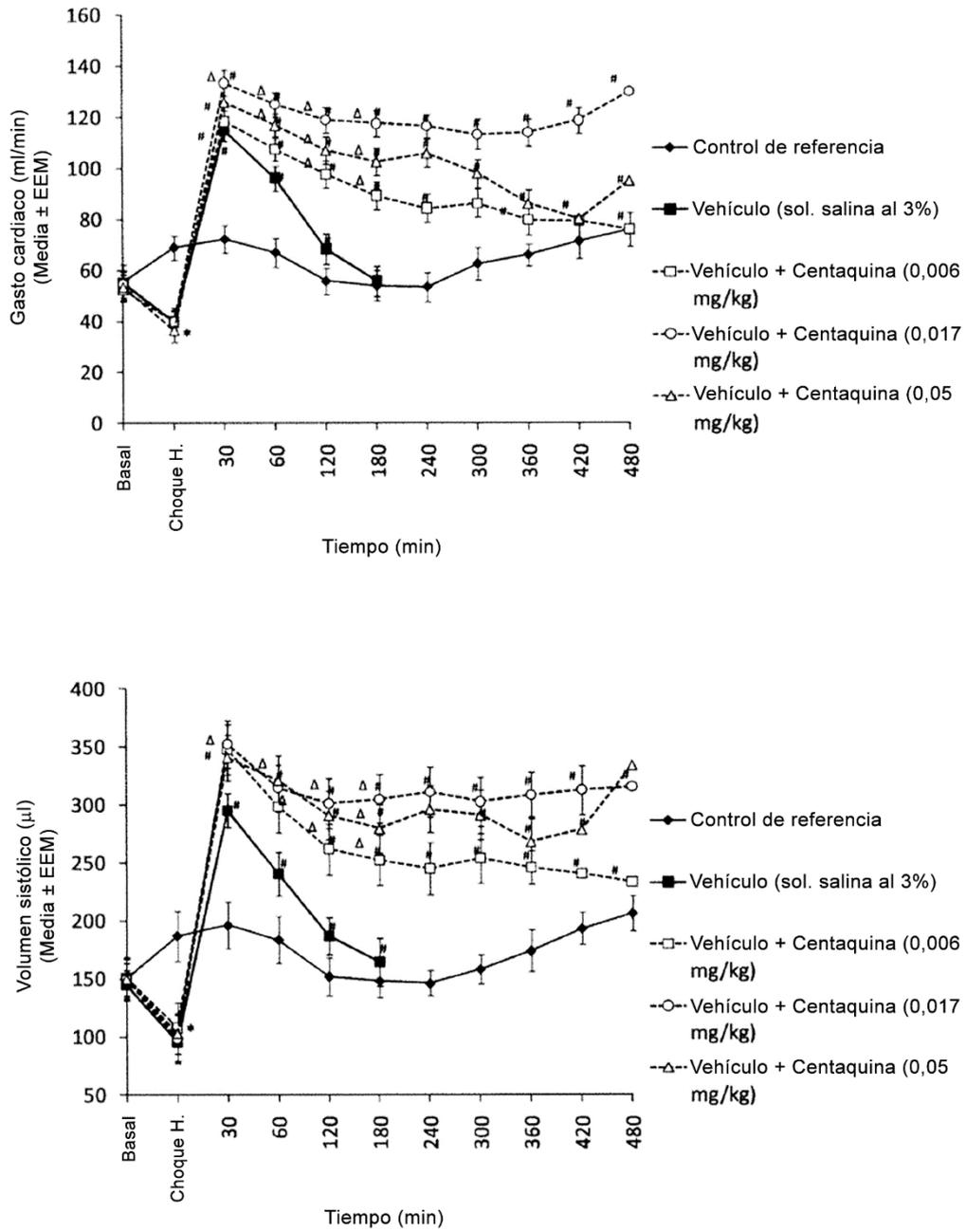


Figura 11

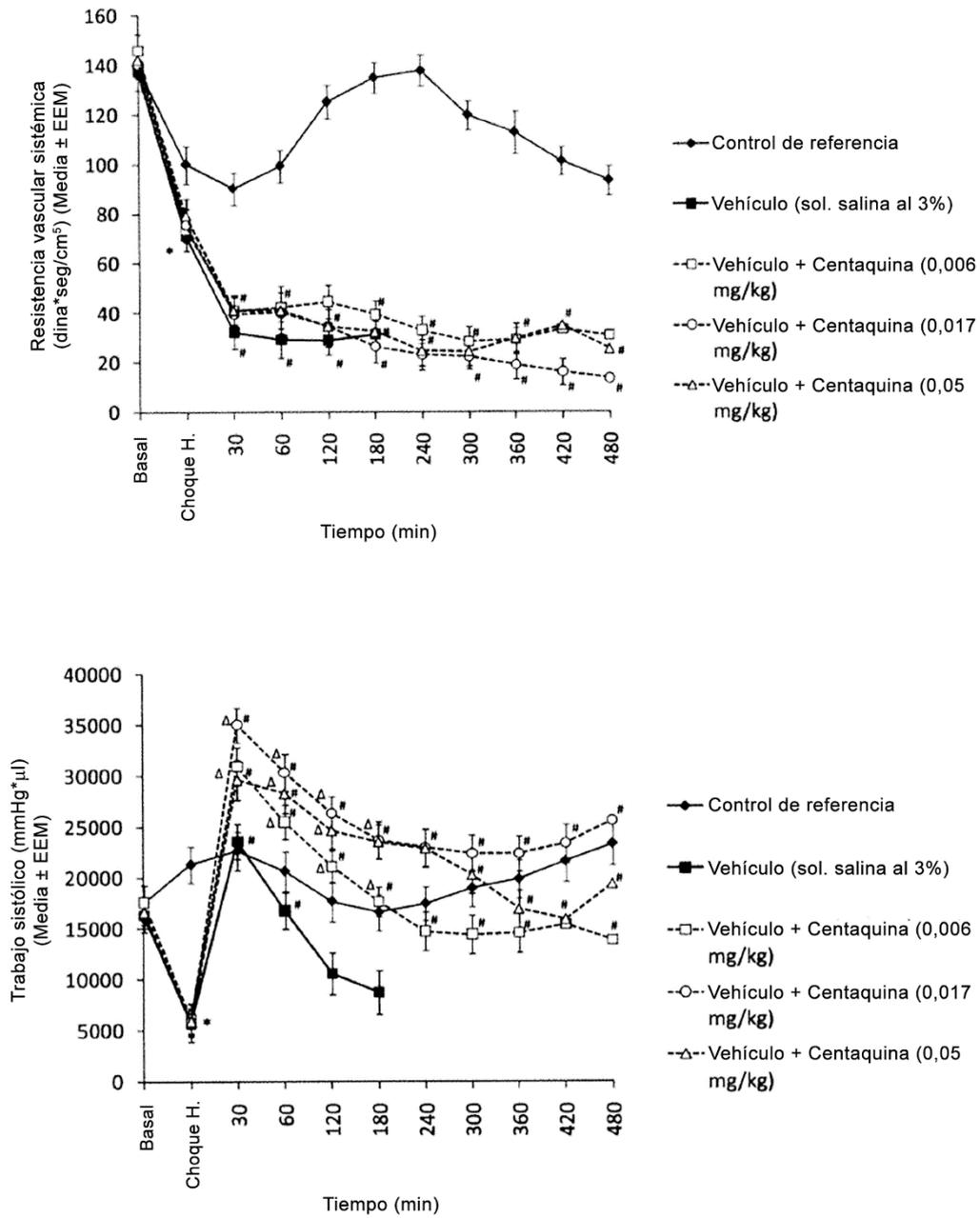


Figura 12

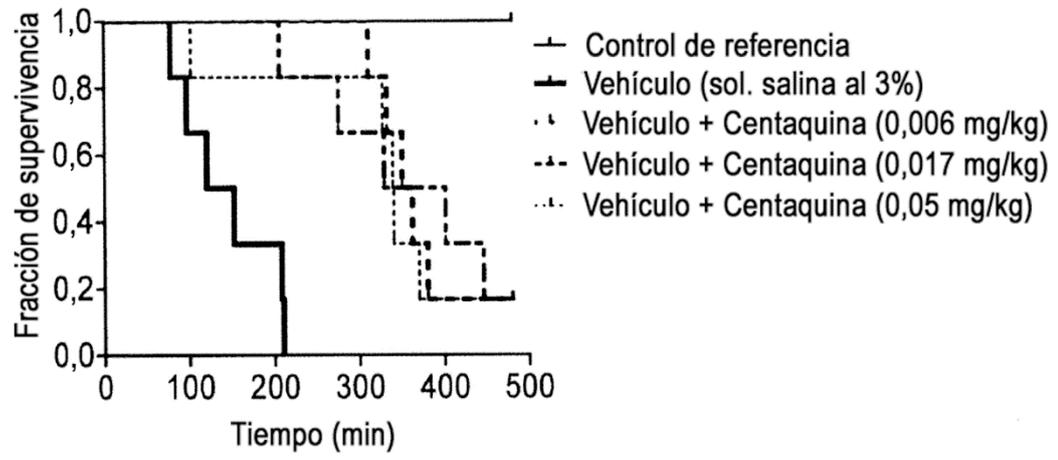


Figura 13

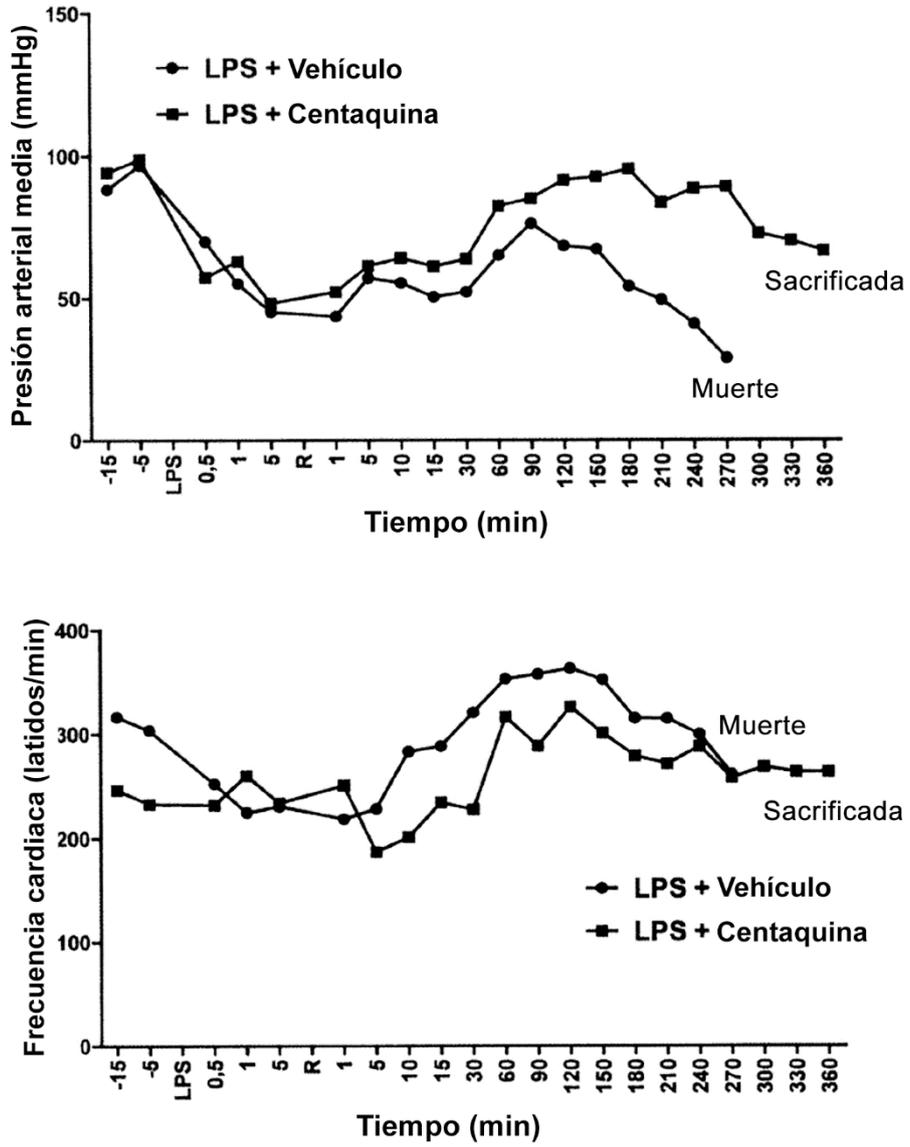


Figura 14