República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0616344-0 A2**

BRPI0616344A2

(22) Data de Depósito: 26/09/2006
(43) Data da Publicação: 14/06/2011
(RPI 2110)

(51) Int.Cl.:
A61K 31/00 2006.01
A61K 31/437 2006.01
A61K 45/06 2006.01
A61P 25/30 2006.01
A61P 25/32 2006.01
A61P 25/34 2006.01
A61P 25/36 2006.01

(54) Título: **MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE DEPENDÊNCIA QUÍMICA E COMPORTAMENTAL**

(30) Prioridade Unionista: 26/09/2005 US 60/720.568, 31/05/2006 US 60/810.038

(73) Titular(es): AVIGEN, INC., THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF COLORADO

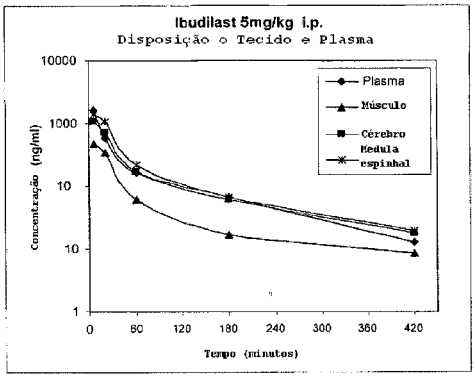
(72) Inventor(es): Kirk W. Johnson, Linda May Rothblum Watkins

(74) Procurador(es): ORLANDO DE SOUZA

(86) Pedido Internacional: PCT US2006037563 de 26/09/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2007/038551de 05/04/2007

(57) Resumo: MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE DEPENDÊNCIA QUÍMICA E COMPORTAMENTAL. A presente invenção é direcionada ao uso de ibudilast para o tratamento de dependências, incluindo dependências química e comportamental. Em particular, ibudilast é usado para diminuir a compensação mediada por dopamina associada com dependências e para tratar síndromes de abstinência após a interrupção da dependência química ou comportamental.



PK Parameters	Plasma	Músculo	Cérebro	Medula espinhal
Cmax (ng/ml)	1645	472	1070	1397
t1/2 (min)	100	139	114	106
AUCinf (ng*min/ml)	60,429	24,511	58,861	76,529
AUC % Plasma		40.6	97	~126

PI0616344-0
Pet.020080078574

MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE DEPENDÊNCIA QUÍMICA E COMPORTAMENTAL

Declaração com relação à pesquisa ou desenvolvimento patrocinado pelo Governo Federal

Esta invenção foi feita com apoio sob a concessão NIH DA017670 e DA015642, do "National Institute of Drug Abuse". Portanto, o Governo dos Estados unidos pode ter certos direitos nessa invenção.

Campo da invenção

A presente invenção relaciona-se, de modo geral, um métodos para o tratamento de dependências a medicamentos comportamentais. Em particular, a presente invenção pertence um métodos para o tratamento de dependências, como dependência a opiáceos, com ibudilast (também aqui denominado AV411) para suprimir a liberação de dopamina no núcleo acumbens, que está associada à sensação de recompensa que as pessoas experimentam em resposta ao comportamento dependente e medicamentos. Adicionalmente, ibudilast pode ser usado para o tratamento de síndrome de abstinência depois da descontinuidade do uso abusivo de medicamento ou comportamental. Ibudilast alivia especificamente os sintomas da abstinência a opiáceos e atenua a ativação de células da glia cerebrais induzida por opiáceos que pode ser ligada à tolerância a opiáceos e fenômeno de abstinência.

Fundamento da invenção

A dependência de certas drogas e comportamentos compulsivos está ligada à excitação de vias de reforço/recompensa mediadas por dopamina no sistema nervoso central (Abbott (2002) *Nature* 419:872-874; Montague e cols.

(2004) *Nature* 431:760- 767). Normalmente a dopamina funciona motivando os mamíferos a terem comportamentos importantes para sua sobrevivência, como comer e sexo, mas em indivíduos com dependências, a dopamina induz a um comportamento não adaptativo. Indivíduos com dependências se sentem compelidos a usar uma substância ou a ter um comportamento repetidamente a despeito de experimentar efeitos prejudiciais. Virtualmente todas as drogas de dependência e comportamentos compulsivos mostraram aumentar as concentrações extracelulares de dopamina no núcleo acumbens de mamíferos.

As drogas que causam dependência induzem dependência mediada por dopamina caracterizada por desejo compulsivo pela droga e comportamentos de procura por drogas. A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou as drogas que causam dependência em nove grupos: 1. álcool, 2. anfetaminas, 3. barbitúricos, 4. maconha, 5. cocaína, 6. alucinógenos, 7. khat, 8. opiáceos, e 9. solventes orgânicos. A desregulação das vias de dopamina está também associada com comportamentos de dependência compulsiva, como consumo de alimentos em excesso, bebida, tabagismo, compras, apostas, sexo, e uso de computador (Comings e cols. (2000) *Prog. Brain Res.* 126:325-341; Comings e cols. (1997) 2:44-56; Blum e cols. (2000) *J. Psychoactive Drugs* 32 supl:i-iv, 1-112; Potenza (2001) *Semin. Clin. Neuropsychiatry* 6:217-226; Gianoulakis (1998) *Alcohol Health Res. World* 22:202-210; Bowirrat e cols. (2005) *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 132:29-37; Di Chiara (2005) *Physiol. Behav.* 86:9-10; Franken e cols. (2005) *Appetite* 45:198-201; Wang e cols. (2004) *J. Addict*

Dis. 23:39-53; Aamodt (1998) *Nature Med.* 4:660; and Koepp e cols. (1998) *Nature* 393:266-268).

Além disso, dependência física e psicológica acompanhada por síndrome de abstinência é freqüentemente associada ao uso de medicamentos que causam dependência e comportamento compulsivo. A abstinência é definida como o surgimento de sintomas físicos e comportamentais após a redução ou cessação do uso da droga ou do comportamento compulsivo. A abstinência reflete mudanças que ocorrem no sistema nervoso central em reposta ao uso continuado de uma substância ou repetição de comportamento dependente que se apropria dos mecanismos normais que medeiam o reforço e recompensa de comportamento para motivar o indivíduo dependente a continuar o consumo de uma droga ou a repetir um comportamento compulsivo em face de sérias conseqüências sociais, legais, físicas e profissionais. Os sintomas físicos da abstinência podem incluir anseios intensos, irritabilidade, ansiedade, disforia, inquietação, perda da concentração, delírios, insônia, tremor, apetite aumentada e ganho de peso, bocejos, perspiração, lacrimejamento, rinorréia, pupilas dilatadas, dores nos ossos, no dorso e musculares, piloereção, surtos de calor e frio, náusea, vômitos, diarréia, a perda de peso, febre e pressão arterial, pulso e taxa de respiração aumentados.

O controle da síndrome de abstinência de opióides foi reconhecida há muito tempo como uma necessidade clínica. A dor crônica aflige mais de um em três adultos ao redor do mundo. Compostos opióides como morfina, são terápicos de primeira linha para o controle de dor crônica. Devido ao fato de a dor crônica, por definição, persistir por vários

meses (a até o restante da vida do paciente), a morfina e compostos semelhantes podem ser dados cronicamente também. Isso é um problema terrível porque os opióides induzem à dependência com a administração repetida, significando que a administração contínua de opióides é necessária para que os pacientes tenham vida normal. Quando os opióides são descontinuados, e também durante o intervalo temporal entre doses sucessivas de opióides, o paciente entra em abstinência.

Porque os opióides exercem ações em uma ampla variedade de tecidos cerebrais, medula espinhal e tecidos corporais, os efeitos dos opióides, e conseqüentes sintomatologias de abstinência são muito diversos. Os sinais da abstinência são geralmente opostos aos efeitos dos opióides. Por exemplo, morfina causa constipação; a abstinência causa diarréia. Morfina diminui a temperatura central do corpo, a abstinência a eleva. Morfina causa sedação, abstinência causa agitação. Os sinais adicionais de abstinência incluem dor aumentada, pupilas dilatadas, "goose pimples" (arrepio), bocejos, câimbras, dores musculares, inquietação, ansiedade extrema, insônia, náusea e vômitos, suores, lacrimejamento, taquicardia e pressão arterial aumentada.

Perversamente, embora a redução da dor seja a razão pela qual os opióides são administrados, a dor recidiva dramaticamente durante a abstinência de modo que a dor não é apenas não controlada pelos opióides na área da queixa da dor original, mas o corpo inteiro é agora extremamente sensível aos estímulos de toque e temperatura, interpretando de modo incorreto estímulos não dolorosos

comuns como dolorosos. O toque leve torna-se doloroso. Calor e frio tornam-se dolorosos. Essa mudança das sensações do dia a dia em dor ameaçadora (junto com outras sintomatologias de abstinência) destrói, diariamente, as vidas de vários milhões nos Estados Unidos isoladamente. Ela cria grande sofrimento em receptores crônicos de opióides, em pacientes que precisam descontinuar os opióides, em dependentes de drogas em recuperação, cujo desejo de evitar os sintomas da abstinência pode impedir que eles escapem do uso ilícito de drogas.

O problema é complicado pelo fato de que não há atualmente nenhum remédio para abstinência, a não ser uma outra dose de opióide. Como é do conhecimento dos dependentes, uma outra dose do medicamento não faz nada para resolver o problema, mas, ao contrário, apenas mascara o problema até que a droga novamente desapareça. Abordagens atuais recuperar pacientes e dependentes da abstinência são terríveis, incluindo "retirada abrupta", sedação e analgesia. A "desintoxicação" é freqüentemente induzida com naltrexona (um antagonista de receptor de opióide) sob anestesia geral ou sedação com benzodiazepina, em um ambiente altamente monitorado como terapia intensiva.

Naltrexona induz a abstinência aguda, com sintomas que duram por cerca de seis dias. Ela é considerada apenas para pacientes com boa saúde. Outros métodos atualmente empregados para recuperar humano da abstinência incluem a administração de medicamentos antiinflamatórios não esteróides como paracetamol, anti-eméticos como metoclopramida, antidiarreicos como loperamida, diazepam para reduzir a ansiedade e agitação, e clonidina para

diminuir a ansiedade, sudorese, e mudanças nos batimentos cardíacos e pressão arterial.

No desenvolvimento de um melhor tratamento para abstinência de opióides é importante considerar que os opióides, incluindo morfina, não afetam apenas os neurônios. Embora neurônios que respondem a opióide em várias regiões do cérebro e medula espinhal suprimam a dor, diminuam a temperatura corporal central, alterem a liberação hormonal etc. (os efeitos clássicos de opióides), foi descoberto recentemente que os opióides também afetam um tipo de célula não neuronal chamado glia (microglia, astrócitos, oligodendrócitos). Morfina e outros opióides ativam a glia. Essa ativação aumenta com administração repetida de opióides, como evidenciado pela supra-regulação de marcadores de ativação específicos para glia. Essa tal ativação glial que contribui para a tolerância a morfina é sustentada pelo achado de que a co-administração de inibidores da glia junto com morfina interrompem o desenvolvimento de tolerância à morfina. O que se segue é que a redução as ativação glial pode ser útil como uma abordagem terapêutica para interromper o desenvolvimento de tolerância à morfina. Watkins, L.R. e cols. (2005) *Trends in Neuroscience* 28:661-669; Gul, H. e cols. (2000) *Pain* 89:39-45; Johnston, I.N. e cols. (2004) *J. Neurosci.* 24:7353-65; Raghavendra, V. e cols. (2002) *J. Neurosci* 22 (22):9980-89; Raghavendra, V. e cols. (2004) *Neuropsychopharmacology* 29 (2):327-34; Shavit, Y. e cols. (2005) *Pain* 115:50-59; Song, P. and Zhao, Z.Q. (2001) *Neurosci. Res.* 39:281-86.

Ativação glial progressiva dirigida por opióide faz a

glia liberar substâncias neuroexcitatórias, incluindo as citocinas pró-inflamatórias interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral (TNF), e interleucina-6 (IL-6). Essas substâncias neuroexcitatórias neutralizam as ações de alívio de dor de opióides, como morfina, e conduzem a sintomatologia de abstinência, como demonstrado por experimentos que envolvem a co-administração de substâncias pró- ou antiinflamatórias junto com morfina. Por exemplo, a injeção de IL-1 no líquido cerebrospinal de camundongos em uma dose que não tem efeito comportamental por si bloqueia o efeito analgésico da morfina sistêmica. De modo similar, a liberação espinhal de morfina e de antagonista de receptor de IL-1 (que evita que a IL-1 exerça seus efeitos), ou morfina e a citocina antiinflamatória IL-10 (que infra-regula a produção, liberação e eficácia de citocinas pró-inflamatórias), aumenta a magnitude e duração da analgesia por morfina. De fato, se a analgesia por morfina é estabelecida e então se dissipa, uma analgesia potente pode ser rapidamente reinstalada por injeção de antagonista de receptor de IL-1, sugerindo que a dissipação da analgesia é causada pelas atividades de citocinas pró-inflamatórias que intensificam a dor em vez da dissipação dos efeitos analgésicos da morfina.

A atividade de outros opióides também pode ser oposta pela ativação da glia. Estudos mostram que a glia e citocinas pró-inflamatórias comprometem o efeito analgésico da metadona, pelo menos em parte, via receptores opióides não clássicos (Watkins, L.R. e cols. (2005) *Trends Neurosci*. 28:661-669). Esses resultados sugerem que a glia e citocinas pró-inflamatórias estarão envolvidas na

abstinência à metadona, e provavelmente na abstinência de outros opióides também. Esses dados também expandem as implicações clínicas da ativação glial, uma vez que tolerância cruzada entre opióides pode ser explicada pela ativação do sistema facilitador de dor glial, que mina todas as tentativas para tratar dor crônica com opióides.

Em resumo, opióides excitam a glia, o que, por sua vez, libera substâncias neuroexcitatórias (como citocinas pró-inflamatórias) que se opõem aos efeitos de opióides e criam sintomas de abstinência com a cessação do tratamento com opióides. Os compostos que suprimem tal ativação glial são novos terápicos benéficos para o tratamento de abstinência aos opióides.

Ainda permanece uma necessidade por compostos aperfeiçoados, composições e métodos de tratamento para dependência a drogas e comportamentais. Em particular, são necessários medicamentos que atenuem ou neutralizem a "recompensa" mediada por dopamina associada com o desejo do dependente e que alivie os sintomas das síndromes de abstinência após a interrupção do uso da droga ou do comportamento compulsivo.

Sumário da invenção

Em um aspecto, a invenção fornece um método para supressão da liberação de dopamina no núcleo acumbens de um indivíduo que compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de ibudilast.

Em certas modalidades, o indivíduo tem uma dependência. Em certas modalidades, a dependência é uma dependência química, por exemplo, a um opiáceo, cocaína, anfetamina, metanfetamina, canabinóide, álcool, ou

nicotina. Em outras modalidades, a dependência é uma dependência comportamental, por exemplo, de consumo de alimentos, bebida, fumo, compras, apostas, sexo, ou de uso de computador.

Em certas modalidades, o indivíduo é um ser humano. Em certas modalidades, ibudilast é administrado por via sistêmica, por exemplo, via intravenosa, subcutânea, oral, intranasal, sublingual ou outras vias sistêmicas . Em outras modalidades, ibudilast é administrado por via central, por exemplo, intratecal. Em certas modalidades, doses múltiplas terapeuticamente eficazes de ibudilast são administradas ao indivíduo. Em certas modalidades, ibudilast é administrado de acordo com um regime de dosagem diária. Em certas modalidades ibudilast é administrado duas vezes ao dia. Em certas modalidades, ibudilast é administrado intermitentemente.

Em um outro aspecto, a invenção fornece um método para o tratamento de uma dependência que compreende a administração a um indivíduo em necessidade desse a quantidade terapeuticamente eficaz de ibudilast.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar comportamento relacionado com dependência de um indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar anseios associados com a dependência a uma droga em um indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar tolerância a uma droga em um a indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método

para diminuir ou eliminar a proeminência de incentivo de sinais associados com comportamento dependente ou dependente de drogas em um indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar sintomas da síndrome de abstinência em um indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar a perda de peso em um indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar a ativação de células da glia em um indivíduo. Em certas modalidades, a ativação da microglia é diminuída ou eliminada no indivíduo. Em certas modalidades, a ativação de astrócito é diminuída ou eliminada no indivíduo. Em certas modalidades, aumentos induzidos por medicamentos de CD11b são reduzidos no cérebro do indivíduo, por exemplo, nas regiões do núcleo do trigêmeo ou cinzenta periaquedutal do cérebro do indivíduo.

Em certas modalidades, a invenção fornece um método para diminuir ou eliminar aumentos induzidos por medicamentos na expressão de citocina pró-inflamatória em um indivíduo. Em certas modalidades, a citocina pró-inflamatória é interleucina-1. Em certas modalidades, a expressão da citocina pró-inflamatória é reduzida no cérebro do indivíduo. Em certas modalidades, a expressão de interleucina-1 é reduzida na região cinzenta periaquedutal dorsal do cérebro do indivíduo.

Em certas modalidades, o indivíduo é um humano. Em certas modalidades, ibudilast é administrado por via sistêmica, por exemplo, via intravenosa, subcutânea, oral, intranasal, sublingual ou outras vias sistêmicas. Em outras

modalidades, ibudilast é administrado centralmente, por exemplo, por via intratecal. Em certas modalidades, múltiplas doses terapeuticamente eficazes de ibudilast são administradas ao indivíduo. Em certas modalidades, ibudilast é administrado de acordo com um regime de dosagem diária. Em certas modalidades ibudilast é administrado duas vezes ao dia. Em certas modalidades, ibudilast é administrado intermitentemente.

Em certas modalidades, a dependência é uma dependência química, por exemplo, a um opiáceo, cocaína, anfetamina, metanfetamina, canabinóide, álcool, ou nicotina. Em outras modalidades, a dependência é uma dependência comportamental, por exemplo, de consumo de alimentos, bebida, fumo, compras, apostas, sexo, ou uso de computador.

Em certas modalidades, ibudilast é usado em terapia de combinação com um ou mais de outros agentes para o tratamento de uma dependência. Em algumas modalidades, um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em analgésicos, medicamentos antiinflamatórios não esteróides (NSAIDs), antieméticos, antidiarreicos, alfa-2-antagonistas, benzodiazepínicos, anticonvulsivantes, antidepressivos, e terápicos para insônia. Em várias modalidades, um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em buprenorfina, naloxona, metadona, acetato de levometadil, L-alfa acetilmetadol (LAAM), hidroxizina, difenoxilato, atropina, clordiazepóxido, carbamazepina, mianserin, benzodiazepina, fenoziazina, disulfiram, acamprosato, topiramato, ondansetron, sertralina, bupropion, amantadina, amilorida, isradipina, tiagabina, baclofen, propranolol, desipramina, carbamazepina,

valproato, lamotrigina, doxepin, fluoxetina, imipramina, moclobemida, nortriptilina, paroxetina, sertralina, triptofano, venlafaxina, trazodona, quetiapina, zolpidem, zopiclona, zaleplon, gabapentina, naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina, e diazepam.

Em um outro aspecto, a invenção relaciona-se a métodos de tratamento de uma síndrome de abstinência a opióides em um mamífero pela administração de uma ou mais doses de ibudilast. Em uma modalidade o indivíduo é um humano.

Em uma outra modalidade o opióide é selecionada do grupo que consiste em morfina, metadona, e fentanil. Em uma modalidade o opióide é morfina. Em algumas modalidades a síndrome de abstinência de opióide é causada por redução ou cessação de administração de um opióide em um indivíduo. Em uma outra modalidade a síndrome de abstinência de opióide é causada pela administração de um antagonista de opióide, como naloxona ou naltrexona.

Em uma modalidade, ibudilast é administrado por via sistêmica, por exemplo, via intravenosa, subcutânea, oral, intranasal, sublingual ou outras vias sistêmicas. Em uma outra modalidade, ibudilast é administrado centralmente, por exemplo por via intratecal.

Em outras modalidades, ibudilast é usado em terapia de combinação com um ou mais outros agentes para o tratamento de abstinência a opióide. Em algumas modalidades, um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em analgésicos, NSAIDs, antieméticos, antidiarreicos, alfa-2-antagonistas e benzodiazepínicos. Em várias modalidades, um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em

naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina e diazepam.

Essas e outras modalidades da atual invenção ocorrerão facilmente para aqueles de habilidade na técnica em vista dessa revelação.

Breve descrição das figuras

A Figura 1 apresenta farmacocinética e distribuição de tecido para ibudilast em ratos.

As Figuras 2A, 2B, 2C e 2D são tempos decorridos (em minutos) de sintomas de abstinência (como medido por uma pontuação de abstinência total) para vários protocolos de tratamento e controle em um modelo de rato de síndrome de abstinência de morfina.

A Figura 3 mostra os níveis de dopamina (DA) no núcleo acumbens (NAc) de ratos tratados com morfina na presença e ausência de ibudilast (AV411).

A Figura 4 compara o comportamento de abstinência durante microdiálise de ratos que foram tratados com morfina na presença e ausência de ibudilast (AV411).

Figura 5 compara comportamento de abstinência induzida por naloxona de ratos tratados com morfina e ibudilast em uma baixa dosagem (2,5 mg/kg), ibudilast em uma alta dosagem (7,5 mg/kg), ou veículo (PEG).

Figuras 6A-6C mostram análises imuno-histoquímicas de amostras de cérebro coletadas de ratos. A Figura 6A mostra uma amostra de cérebro de um animal tratado com veículo e morfina. A Figura 6B mostra uma amostra de cérebro de um animal sem qualquer tratamento. a Figura 6C mostra uma amostra de cérebro de um animal tratado com ibudilast e morfina. Morfina causou significativa ativação da microglia

na região cinzenta periaquedutal como indicado por coloração de CD11b (Figura 6A). Tratamento com ibudilast reduziu dramaticamente o aumento no marcador CD11b causado por administração crônica de morfina (Figura 6C).

A Figura 7 mostra uma análise de densitometria do marcador de ativação da microglia CD11b de amostras de cérebro. Ibudilast causou uma redução significativa no marcador de ativação da microglia CD11b em 2 regiões do cérebro, a cinzenta periaquedutal e o homólogo cerebral do corno da espinha dorsal, o núcleo do trigêmeo.

A Figura 8 mostra uma comparação da expressão de IL-1 em tecido cerebral coletado de animais tratados com ibudilast, ibudilast e morfina, e morfina e veículo (PEG). Morfina aumentou IL-1 mRNA na região cinzenta periaquedutal dorsal mas não na região cinzenta periaquedutal ventral do cérebro. Ibudilast bloqueou o aumento induzido por morfina em IL-1 mRNA na região cinzenta periaquedutal dorsal.

A Figura 9 mostra a perda de peso atenuada por ibudilast em animais que experimentam abstinência a opióide espontânea.

A Figura 10 mostra os níveis de dopamina no núcleo acumbens em animais dependentes de morfina após a administração de morfina (no momento 0) e durante a abstinência a opióide precipitada por naloxona (10 mg/kg de naloxona foram administrados por via subcutânea por 60 minutos) em animais tratados com ibudilast (7,5 mg/kg) ou veículo (PEG).

A Figura 11 mostra os níveis de dopamina no núcleo acumbens em animais dependentes de morfina após a administração de morfina (no momento 0) em animais tratados

com ibudilast (7,5 mg/kg), morfina, ou uma combinação de ibudilast e morfina.

Descrição detalhada da invenção

A prática da presente invenção empregará, a menos que indicado de outra forma, métodos convencionais de química, bioquímica, e farmacologia no nível de habilidade da técnica. Tais técnicas são totalmente explicadas na literatura. Veja, por exemplo, A.L. Lehninger, *Biochemistry* (Worth Publishers, Inc., current addition); Morrison e Boyd, *Organic Chemistry* (Allyn e Bacon, Inc., current addition); J. March, *Advanced Organic Chemistry* (McGraw Hill, current addition); Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, A. Gennaro, Ed., 20ª Ed.; Goodman & Gilman *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, J. Griffith Hardman, L. L. Limbird, A. Gilman, 10ª Ed.

i. Definições

Na descrição e nas reivindicações da presente invenção, a seguinte terminologia será usada de acordo com as definições abaixo descritas.

Deve ser observado que, como usado nessa especificação e nas reivindicações, as formas singulares "um", "uma" e "o/a" incluem referentes no plural, a menos que o contexto dite claramente em contrário. Portanto, por exemplo, referência a "um medicamento" inclui um medicamento único bem como dois ou mais dos mesmos medicamentos ou diferentes medicamentos, referência a "um excipiente opcional" refere-se a um excipiente opcional único bem como a dois ou mais dos mesmos ou diferentes excipientes opcionais, e outros.

"Excipiente ou veículo farmaceuticamente aceitável" refere-se a um excipiente que pode ser opcionalmente

incluído nas composições da invenção e que não causa quaisquer efeitos toxicológicos adversos significativos ao paciente.

"Sal farmaceuticamente aceitável" inclui, mas não é limitado a, sais de aminoácido, sais preparados com ácidos inorgânicos, como sais de cloreto, sulfato, fosfato, difosfato, hidrobrometo, e nitrato, ou sais preparados com um ácido orgânico, como sais de malato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, etilsuccinato, citrato, acetato, lactato, metanossulfonato, benzoato, ascorbato, para-toluenossulfonato, palmoato, salicilato e estearato, bem como estolato, gluceptato e lactobionato. De forma similar sais que contêm cátions farmaceuticamente aceitáveis incluem, sem limitação, sódio, potássio, cálcio, alumínio, lítio, e amônio (incluindo amônio substituído).

"Molécula ativa" ou "agente ativo" como aqui descrito inclui qualquer agente, medicamento, composto, composição de matéria ou mistura que forneça algum efeito farmacológico, freqüentemente benéfico, que possa ser demonstrado *in-vivo* ou *in vitro*. Esses incluem alimentos, suplementos alimentares, nutrientes, nutracêuticos, medicamentos, vacinas, anticorpos, vitaminas, e outros agentes benéficos. Como aqui usado, os termos também incluem qualquer substância fisiologicamente ou farmacologicamente ativa que produza um efeito localizado ou sistêmico em um paciente.

"Substancialmente" ou "essencialmente" significa quase totalmente ou completamente, por exemplo, 95% ou mais de alguma quantidade dada.

"Opcional" ou "opcionalmente" significa que a

circunstância subseqüentemente descrita pode ou não ocorrer, de modo que a descrição inclua casos em que a circunstância ocorre e casos em que ela não ocorre.

O termo "sistema nervoso central" ou "SNC" inclui todas as células e tecidos do cérebro e medula espinhal de um vertebrado. Portanto, o termo inclui, sem limitação, células neuronais, células da glia (astrócitos, microglia, oligodendrócitos), fluido cerebrorraquidiano (FCR), espaços intersticiais e outros.

Os termos "pessoa", "indivíduo" ou "paciente" são usados de forma intercambiável nessa e se referem a um a vertebrado, preferivelmente um mamífero. Mamíferos incluem, sem limitação, murídeos, roedores, símios, humanos, animais de fazenda, animais de esporte e domésticos.

O termo "cerca de", particularmente em referência a uma dada quantidade, deve incluir desvios de mais ou menos cinco por cento.

O termo "dependência" é aqui definido como o uso compulsivo de uma droga ou a execução de um comportamento repetidamente que aumenta as concentrações extracelulares de dopamina no núcleo acumbens. Uma dependência pode ser a uma droga que inclui, sem limitação, psico-estimulantes, analgésicos narcóticos, álcoois e alcalóides viciantes como nicotina, canabinóides, ou combinações desses. Exemplos de psico-estimulantes incluem, sem limitação, anfetamina, dextroanfetamina, metanfetamina, fenmetrazina, dietilpropiona, metilfenidato, cocaína, fenciclidina, metilenedioximetanfetamina e sais farmaceuticamente aceitáveis desses. Exemplos de analgésicos narcóticos incluem, sem limitação, alfentanil, alfaprodina,

anileridina, bezitramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanil, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorfan, levorfanol, metazocina, metadona, metopon, morfina, extratos do ópio, extratos fluidos do ópio, ópio em pó, ópio granulado, ópio bruto, tintura de ópio, oxicodona, oximorfona, petidina, fenazocina, piminodina, racemetorfan, racemorfan, tebaína e sais farmaceuticamente aceitáveis desses. Drogas viciantes também incluem depressores do sistema nervoso central, como barbitúricos, clordiazepóxido, e álcoois, como etanol, metanol, e álcool isopropílico. O termo dependência também inclui dependências comportamentais, por exemplo, consumo compulsivo de alimentos, bebida, fumo, compras, apostas, sexo, e uso de computador.

Um indivíduo que sofre de uma dependência experimenta comportamento relacionado com a dependência, anseio de usar uma substância no caso de uma dependência química ou compulsões devastadoras de repetir um comportamento no caso de uma dependência comportamental, a incapacidade de interromper o uso da droga ou o comportamento compulsivo a despeito de conseqüências indesejáveis (por exemplo, impactos negativos sobre a saúde, relações pessoais, e finanças, desemprego, ou aprisionamento),efeitos de recompensa/incentivo associados à liberação de dopamina, proeminência de sinais associados a droga ou comportamento, dependência, tolerância, ou qualquer combinação desses.

O comportamento relacionado com a em referência a uma dependência química inclui comportamento que resulta de um uso compulsivo de uma droga caracterizado por dependência sobre a substância. A sintomática do comportamento é (i)

envolvimento devastador com o uso da droga, (ii) a segurança do seu suprimento, e (iii) uma alta probabilidade de recaída após a abstinência.

Os termos "quantidade eficaz" ou "quantidade farmaceuticamente eficaz" de uma composição ou agente, como aqui fornecido, refere-se a uma quantidade não tóxica mas suficiente da composição para fornecer a resposta desejada, como supressão da liberação de dopamina no núcleo acumbens de um indivíduo ou supressão de ativação glial em um indivíduo, e opcionalmente, um efeito terapêutico correspondente. A quantidade exata necessária irá variar de indivíduo para indivíduo, dependendo da espécie, idade, e condição geral do indivíduo, da severidade da condição sendo tratada, do medicamento ou medicamentos em particular empregados, da via de administração, e outros. Uma quantidade "eficaz" adequada em qualquer caso individual pode ser determinada por pessoa de habilidade comum na técnica com o uso de experimentação rotineira.

Por "dose ou quantidade terapeuticamente eficaz" de ibudilast entende-se uma quantidade que, quando ibudilast é administrado como aqui descrito, traz uma resposta terapêutica positiva no tratamento de uma dependência a drogas ou comportamental, como diminuição ou eliminação de comportamento relacionado com dependência de um indivíduo, diminuição ou eliminação de anseios associados com a dependência a uma droga ou um comportamento em um indivíduo, diminuição ou eliminação de tolerância a uma droga em um indivíduo, diminuição ou eliminação da proeminência de incentivo da droga - ou sinais associados ao comportamento em um indivíduo, e/ou diminuição ou

eliminação de sintomas de abstinência causados por redução ou cessação de uso viciante de drogas ou comportamento por um indivíduo.

II. Modos de realizar a invenção

Antes de descrever a presente invenção em detalhe, deve-se entender que esta invenção não é limitada a formulações particulares ou parâmetros de processo uma vez que tais, de fato, podem variar. Também deve ser entendido que a terminologia aqui usada é para o objetivo de descrição de modalidades particulares da invenção apenas, não deve ser limitante.

Embora inúmeros métodos e materiais similares ou equivalentes àqueles aqui descritos possam ser usados na prática da presente invenção, os materiais e métodos preferidos são aqui descritos.

A presente invenção é baseada na descoberta de uma nova metodologia terapêutica para tratar de forma segura e eficaz a dependência com ibudilast. Os métodos da invenção reduzem a liberação de dopamina no núcleo acumbens, que é associada com anseios e comportamento compulsivo em dependentes. Os métodos da invenção são particularmente úteis na diminuição ou eliminação de comportamento relacionado à dependência e alívio de sintomas de síndromes de abstinência em um indivíduo.

Para um entendimento adicional da invenção, uma discussão mais detalhada é fornecida abaixo em relação aos métodos de tratamento de dependências com ibudilast.

Tratamento de dependências com ibudilast

Acredita-se que a liberação de liberação de dopamina no núcleo medeia a "recompensa" que motiva o uso de drogas

e comportamento compulsivo associados com dependências. Em um aspecto, a invenção fornece um método para supressão da liberação de dopamina no núcleo acumbens de um indivíduo que compreende a administração ao indivíduo de uma composição que compreende uma quantidade eficaz de ibudilast.

Ibudilast na presente aplicação suprime a liberação de dopamina no núcleo acumbens. Como mostrado no Exemplo 3, ibudilast suprime a liberação de dopamina no núcleo acumbens em ratos tratados com morfina, como medido por microdiálise *in vivo*. Além disso, ibudilast suprime os sinais de comportamento induzido por naloxona de abstinência à morfina em ratos.

Portanto, a invenção relaciona-se ao uso de ibudilast para tratar dependências, e em particular, ao uso de ibudilast para atenuar ou abolir a "recompensa" mediada por dopamina associada com dependências, assim diminuindo ou eliminando anseios associados com as dependências e o comportamento relacionado à dependência e síndromes abstinência de um indivíduo que acompanham.

Em certas modalidades, a quantidade terapeuticamente eficaz de ibudilast pode ser administrada a um indivíduo para tratar a dependência química. O indivíduo pode ser dependente de uma ou mais drogas incluindo, sem limitação, psico-estimulantes, analgésicos narcóticos, álcoois e alcalóides viciantes, como nicotina, canabinóides, ou combinações desses. Exemplos de psico-estimulantes incluem, sem limitação, anfetamina, dextroanfetamina, metanfetamina, fenmetrazina, dietilpropiona, metilfenidato, cocaína, fenciclidina, metilenodioximetanfetamina e sais

farmaceuticamente aceitáveis desses. Exemplos de analgésicos narcóticos incluem, sem limitação, alfentanil, alfaprodina, anileridina, bezitramida, codeína, dihidrocodeína, difenoxilato, etilmorfina, fentanil, heroína, hidrocodona, hidromorfona, isometadona, levometorphan, levorfanol, metazocina, metadona, metopon, morfina, extratos de ópio, extratos de fluido de ópio, ópio em pó, ópio granulado, ópio bruto, tintura de ópio, oxicodona, oximorfona, petidina, fenazocina, piminodina, racemetorfan, racemorfan, tebaína e sais farmaceuticamente aceitáveis desses. Drogas viciantes trambem incluem depressores do sistema nervoso central, incluindo, sem limitação, barbitúricos, clordiazepóxido, e álcoois, como etanol, metanol, e álcool isopropílico.

Em outras modalidades, a quantidade terapeuticamente eficaz de ibudilast pode ser administrados a um indivíduo para tratar a dependência comportamental. A dependência comportamental pode incluir, sem limitação, consumo compulsivo de alimentos, bebidas, fumo, compras, apostas, sexo, e uso de computador.

Em certas modalidades, ibudilast é usado em terapia de combinação com um ou mais outros agentes para o tratamento de uma dependência. Tais agentes incluem, mas não são limitados a, analgésicos, NSAIDs, antieméticos, antidiarreicos, alfa-2-antagonistas, benzodiazepínicos, anticonvulsivantes, antidepressivos, e terápicos para insônia. Exemplos de agentes incluem, sem limitação, buprenorfina, naloxona, metadona, acetato de levometadil, L-alfa acetilmetadol (LAAM), hidroxizina, difenoxilato, atropina, clordiazepóxido, carbamazepina, mianserina,

benzodiazepina, fenoziazina, disulfiram, acamprosato, topiramato, ondansetron, sertralina, bupropiona, amantadina, amilorida, isradipina, tiagabina, baclofen, propranolol, desipramina, carbamazepina, valproato, lamotrigina, doxepina, fluoxetina, imipramina, moclobemida, nortriptilina, paroxetina, sertralina, triptofano, venlafaxina, trazodona, quetiapina, zolpidem, zopiclona, zaleplon, gabapentina, naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina, e diazepam.

Tratamento de abstinência a opiáceos com ibudilast

A presente invenção também relaciona-se a novas abordagens antiinflamatórias para tratar dependência e abstinência de opióides, e especificamente o uso de ibudilast como um tratamento terapêutico eficaz para abstinência a morfina. Acredita-se que as manifestações da abstinência à morfina resultem, em parte, da ativação glial no sistema nervoso central (Narita e cols. (2006) *Nature Neuropsychopharmacology* 1-13). Ibudilast é um medicamento antiinflamatório com a capacidade de infra-regular a a ativação de células da glia. Mizuno e cols. (2004) *Neuropharmacology* 46: 404-411; Suzumura e cols. (1999) *Brain Res.* 837:203-212; Wakita e cols. (2003) *Brain Res.* 992: 53-59. A administração sistêmica (por exemplo oral) ou central (por exemplo intratecal) de ibudilast fornece uma nova abordagem para atenuar abstinência à morfina, assim fornecendo um tratamento eficaz para uma condição com poucas boas opções terapêuticas.

Ibudilast age suprimindo a inflamação via ação sobre células inflamatórias (por exemplo células da glia) que

resultam na supressão de liberação de mediador pró-inflamatório e mediador neuroativo. Embora ibudilast (administrado por via sistêmica) tenha sido extensivamente explorado em várias outras indicações clínicas, ele não foi proposto previamente para alívio de abstinência à morfina.

Uma parte crescente da literatura sugere que o tratamento repetitivo com morfina pode resultar em ativação de células da glia (microglia, astrócitos), e que tal ativação pode contribuir para a seqüela de eventos associados com tolerância e abstinência à morfina.

Vários sinais ativam a glia: desafios imunes, infecção e/ou inflamação periférica, substâncias liberadas durante transmissão neurônio-a-neurônio prolongada (por exemplo, neurotransmissores, óxido nítrico, prostaglandinas, substância P, fractalquina etc.), dano neuronal (por exemplo, fractalquina, proteínas "heat shock", componentes da parede celular) etc. A função glial é modificada dramaticamente com a ativação, resultando em elevada liberação de substâncias neuroativas. Tais eventos devem contribuir para função neurológica alterada com manifestações que variam de neurodegeneração, a facilitação da dor, a sensibilização de dependência à morfina e subseqüente síndrome de abstinência. Watkins e Maier (2002) *Physiol. Rev.* 82: 981-1011; Watkins e Maier (2004) *Drug Disc. Todia: Ther. Strategies* 1(1): 83-88, etc.

De acordo com a presente invenção, ibudilast pode ser usado para reduzir essa ativação glial indesejada. Ibudilast cruza a barreira hematencefálica quando administrado por via sistêmica (Sugiyama e cols. (1993) *No To Shinkei* 45(2):139-42; veja também a FIG. 2 nessa),

eliminando a necessidade por métodos mais invasivos de administração para acessar sítios centrais de inflamação envolvidos na patogênese de dependência e abstinência à morfina. Embora certos agentes como minociclina e fluorcitrato possam ter alguma atividade evitando a ativação glial, eles são inaceitáveis para terapia humana. Fluorcitrato é inaceitável porque ele pode bloquear a absorção glial de aminoácidos excitatórios (Berg-Johnsen e cols. (1993) *Exp. Brain Res.* 96(2):241-6), uma função essencial da glia na manutenção da homeostase normal do SNC, e doses de duração estendida ou aumentadas de fluorcitrato causam convulsões. Willoughby J.O., e cols. (2003) *J. Neurosci. Res.* 74(1):160-66; Hornfeldt, C.S. e Larson, A.A. (1990) *Eur. J Pharmacol.* 179(3):307-13. Embora minociclina possa ser útil na prevenção de ativação glial, ela não parece ser capaz de reverter situações existentes. Raghavendra e cols. (2003)1 *Pharmacol. e Exp. Therapeutics* 306: 624-30; Ledeboer, A., e cols. (2005) *Pain* 115:71-83.

Juntos, a glia e seus produtos pró-inflamatórios ou neuromoduladores podem apresentar oportunidades para novas estratégias para controle de abstinência à morfina. Em uma modalidade of a presente invenção, ibudilast é usado para bloquear a liberação de citocinas pró-inflamatórias e substâncias neuromoduladoras. Ibudilast é um potente supressor da ativação glial. Mizuno e cols. (2004) *Neuropharmacology* 46:404-11. em uma maneira dependente de dose, ibudilast suprimiu a produção de óxido nítrico (NO), espécies de oxigênio reativo, interleucina (IL)-1β, IL-6, e fator de necrose tumoral (TNF) e aumentou a produção da citocina inibidora, IL-10, e fatores neurotróficos

adicionais, incluindo fator de crescimento de nervos (NGF), fator neurotrófico derivado da glia (GDNF), e neurotrofina (NT)-4 em microglia ativada.

Em uma modalidade da presente invenção, ibudilast é administrado por via sistêmica ou intratecal em indivíduos humanos para o tratamento de síndromes de abstinência à morfina.

Em outras modalidades, ibudilast é administrado por via sistêmica (por exemplo oral) ou central (por exemplo intratecal) para atenuar elementos neuropatológicos da abstinência à morfina.

Informação adicional é disponível nas seguintes publicações: Obernolte, R., e cols. (1993) *Gene* 129:239-47; Rile, G., e cols. (2001) *Thromb. Res.* 102:239-46; Souness, J. E., e cols. (1994) *Br. J. Pharmacol.* 111:1081-88; Suzumura, A., e cols. (1999) *Brain Res.* 837:203-12; Takuma, K., e cols. (2001) *Br. J. Pharmacol.* 133:841-848.

Ibudilast também pode ser administrado em combinação com um ou mais de outros agentes como parte de um protocolo de tratamento de abstinência à opióides. Tais agentes incluem, sem limitação, os seguintes agentes:

Naltrexona (17-(ciclopropilmetil)-4,5α-epoxi-3,14-dihidroximorfinan-6-ona, CAS No. 16676-29-2 (HCl)) tem a fórmula molecular $C_{20}H_{23}NO_4$ e um peso molecular de 341,4.

Metoclopramida (4-amino-5-cloro-N-(2-dietilaminoetil)-2-metoxibenzamida, CAS No. 364-62-5) tem a fórmula molecular $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ e um peso molecular de 299,8.

Loperamida (4-[4-(4-clorofenil)-4-hidroxi-1-piperidil]-N,N-dimetil-2,2-difenil-butanamida, CAS No. 53179-11-6) tem a fórmula molecular $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$ e um peso

molecular de 477,04.

Diazepam (10-cloro-6-metil-2-fenil-3,6-diazabiciclo[5.4.0]undeca-2,8,10,12-tetraen-5-ona, CAS No. 439-14-5) tem a fórmula molecular $C_{16}H_{13}ClN_2O$ e um peso molecular de 284,74.

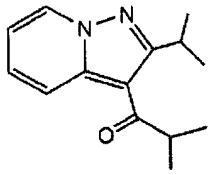
Clonidina cloridrato de (2-(2,6-dichlorofenilamino)-2-imidazolina, CAS No. 4205-90-7) tem a fórmula molecular $C_9H_9CI_2N_3HCl$ e um peso molecular de 266,56.

Paracetemol (N-(4-hidroxifenil)etanamida, CAS No. 103-90-2), também referido como acetaminofen, tem a fórmula molecular $C_8H_9NO_2$ e um peso molecular de 151,2.

Composições farmacêuticas para o tratamento de dependência

Ibudilast

Ibudilast é um medicamento de molécula pequena (peso molecular de 230,3) que tem a estrutura mostrada abaixo.



I

Ibudilast é também encontrado sob ChemBank ID 3227, CAS # 50847-11-5, e Beilstein Handbook Referência No. 5-24-03-00396. Sua fórmula molecular corresponde a $[C_{14}H_{18}N_2O]$. Ibudilast é também conhecido por vários nomes químicos que incluem 2-metil-1-(2-(1-metiletil)pirazol(1,5-a)piridin-3-il)1-propanono; 3-isobutiril-2-isopropilpirazolo(1,5-a)piridina]; e 1-(2-isopropil-pirazol[1,5-a]piridin-3-il)-2-metil-propan-1-ona. Outros sinônimos para ibudilast incluem Ibudilastum (Latin), BRN 0656579, KC-404, e o nome comercial Ketas®. Ibudilast, como aqui referido, deve incluir quaisquer e todas formas de sal farmaceuticamente aceitável desse, formas de pró-fármaco (por exemplo, o

cetal correspondente) e outros, como adequado pra uso em sua formulação para administração.

Ibudilast é um inibidor não seletivo de nucleotídeo fosfodiesterase (PDE) (mais ativo contra PDE-3, PDE-4, PDE-10, e PDE-11 (Gibson e cols. (2006) *Eur. J. Pharmacology* 538:39-42)), e tem atividades antagonistas de LTD4 e PAF. Seu perfil parece ser antiinflamatório eficaz e único em comparação a outros inibidores de PDE e agentes antiinflamatórios. PDEs catalisam a hidrólise da ligação de fosfoéster no 3'-carbono para gerar o 5'-nucleotídeo monofosfato correspondente. Portanto, eles regulam as concentrações celulares de nucleotídeos cíclicos. Uma vez que receptores extracelulares para vários hormônios e neurotransmissores utilizam nucleotídeos cíclicos como segundos mensageiros, os PDEs também regulam as repostas celulares a esses sinais extracelulares. Há 11 familias de PDEs: PDEs dependentes de Ca^{2+}/calmodulina (PDE1); PDEs estimulados por cGMP (PDE2); PDEs inibidos por cGMP (PDE3); PDEs específicos para cAMP (PDE4); PDEs de ligação de cGMP (PDE5); PDEs foto-receptores (PDE6); PDEs específicos para cAMP de alta afinidade (PDE7); PDE específico (PDE8); PDEs específicos para cGMP de alta afinidade (PDE9); e PDEs mistos para cAMP e cGMP (PDE10, PDE11).

Como anteriormente determinado, uma referência a qualquer um ou mais dos medicamentos aqui descritos, em particular ibudilast, deve abranger, quando aplicável, quaisquer e todos enantiômeros, misturas de enantiômeros incluindo misturas racêmicas, pró-fármacos, formas de sal farmaceuticamente aceitável, hidratos (por exemplo, monoidratos, diidratos etc.), diferentes formas físicas

(por exemplo, sólidos cristalinos, sólidos amorfos), metabólitos e outros.

Componentes da formulação

Excipientes/Veículos

Opcionalmente, além de ibudilast, as composições da invenção também podem compreender um ou mais excipientes ou veículos farmaceuticamente aceitáveis. Exemplos de excipientes incluem, sem limitação, carboidratos, amidos (por exemplo, amido de milho), sais inorgânicos, agentes antimicrobianos, antioxidantes, ligantes/preenchedores, tensoativos, lubrificantes (por exemplo, estearato de cálcio ou magnésio), deslizante como talco, desintegrantes, diluentes, tampões, ácidos, bases, revestimentos em filme, combinações desses e outros.

Uma composição da invenção pode incluir um ou mais carboidratos como um açúcar, um açúcar derivado como um alditol, ácido aldônico, um açúcar esterificado, e/ou um polímero de açúcar. Excipientes de carboidrato específicos incluem, por exemplo: monossacarídeos, como frutose, maltose, galactose, glicose, D-manose, sorbose e outros; dissacarídeos, como lactose, sacarose, trehalose, celobiose, e outros; polissacarídeos, como rafinose, melezitose, maltodextrinas, dextranas, amidos, e outros; e alditóis, como manitol, xilitol, maltitol, lactitol, xilitol, sorbitol (glucitol), piranosil sorbitol, mioinositol, e outros.

Também adequados para uso nas composições da invenção são amidos com base em bata e milho como sódio amido glicolato e amido modificado diretamente compressível.

Excipientes representativos adicionais incluem sal

inorgânico ou tampões como ácido cítrico, cloreto de sódio, cloreto de potássio, sulfato de sódio, nitrato de potássio, fosfato monobásico de sódio, fosfato dibásico de sódio, e combinações desses.

Uma composição que contém ibudilast da invenção também pode incluir um agente antimicrobiano, por exemplo, para prevenção ou deterioração do crescimento microbiano. Exemplos não limitantes de agentes antimicrobianos adequados para a presente invenção incluem cloreto de benzalcônio, cloreto de benzetônio, álcool benzílico, cloreto de cetilpiridínio, clorobutanol, fenol, feniletil álcool, nitrato fenilmercúrico, timerosol, e combinações desses.

Uma composição da invenção também pode conter um ou mais antioxidantes. Antioxidantes são usados para prevenir a oxidação, assim evitando a deterioração dos medicamentos ou outros componentes da preparação. Antioxidantes adequados para uso na presente invenção incluem, por exemplo, ascorbil palmitato, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, ácido hipofosforoso, monotioglicerol, propil galato, bissulfito de sódio, formaldeído sulfoxilato de sódio, metabissulfito de sódio e combinações desses.

Excipientes adicionais incluem tensoativos como polissorbatos, por exemplo, "Tween 20" e "Tween 80," e plurônicos como F68 e F88 (ambos disponíveis por BASF, Mount Olive, New Jersey), ésteres de sorbitano, lipídeos (por exemplo, fosfolipídeos como lecitina e outras fosfatidilcolinas, e fosfatidiletanolaminas), ácidos graxos e ésteres graxos, esteroides como colesterol, e agentes

quelantes, como EDTA, zinco e outros cátions adequados.

Além disso, a composição da invenção pode incluir opcionalmente um ou mais ácidos ou bases. Exemplos não limitantes de ácidos que podem ser usados incluem aqueles ácidos selecionados do grupo que consiste em ácido clorídrico, ácido acético, ácido acético, ácido fosfórico, ácido cítrico, ácido málico, ácido lático, ácido fórmico, ácido tricloroacético, ácido nítrico, ácido perclórico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, e combinações desses. Exemplos de bases adequadas incluem, sem limitação, bases selecionadas do grupo que consiste em hidróxido de sódio, acetato de sódio, hidróxido de amônio, hidróxido de potássio, acetato de amônio, acetato de potássio, fosfato de sódio, fosfato de potássio, citrato de sódio, formato de sódio, sulfato de sódio, sulfato de potássio, fumarato de potássio e combinações desses.

A quantidade de qualquer excipiente individual na composição irá variar dependendo do papel do excipiente, das necessidades de dosagem dos componentes do agente ativo, e das necessidades particulares da composição. Tipicamente, a quantidade ótima de qualquer de excipiente individual é determinada através de experimentação rotineira, ou seja, por preparação de composições que contêm quantidades variáveis do excipiente (variando de baixa a alta), examinando a estabilidade e outros parâmetros, e então determinando a faixa em que a performance ótima é atingida com nenhum efeito adverso significativo.

Geralmente, no entanto, o excipiente estará presente na composição em uma quantidade de cerca de 1% a cerca de

99% em peso, preferivelmente de cerca de 5% a cerca de 98% em peso, mais preferivelmente de cerca de 15 a cerca de 95% em peso do excipiente. Em geral, a quantidade de excipiente presente em uma composição de ibudilast da invenção é selecionada das seguintes: pelo menos cerca de 2%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, ou ainda 95% em peso.

Esses excipientes farmacêuticos anteriores junto com outros excipientes são descritos em "Remington: The Science & Practice of Pharmacy", 19ª ed., Williams & Williams, (1995), o "Physician's Desk Reference", 52ª ed., Medical Economics, Montvale, NJ (1998), e Kibbe, A.H., Handbook of Pharmaceutical Excipients, 3ª Edição, American Pharmaceutical Association, Washington, D.C., 2000.

Outros agentes ativos

Uma formulação (ou kit) de acordo com a invenção pode conter, além de ibudilast, um ou mais agentes ativos adicionais eficazes no tratamento de dependência. Preferivelmente, o agente ativo é um que possua um mecanismo de ação diferente daquele de ibudilast. Tais agentes ativos incluem naltrexona, metoclopramida, loperamida, diazepam, clonidina, lofexidina, e paracetemol.

Formulações de liberação sustentada

Preferivelmente, as composições são formuladas para melhorar a estabilidade e estender a meia-vida de ibudilast. Por exemplo, ibudilast pode ser liberado em formulações de liberação sustentada. Formulações de liberação sustentada ou controlada são preparadas por incorporação de ibudilast em um transportador ou veículo como lipossomos, polímeros não reabsorvíveis impermeáveis

como copolímeros de etilenovinil acetato e copolímeros de Hytrel, polímeros com capacidade de expansão como hidrogéis, ou polímeros reabsorvíveis como colágeno e certos poliácidos ou poliésteres como aqueles usados para fazer suturas reabsorvíveis. Adicionalmente, ibudilast pode ser encapsulado, absorvido a, ou associado com, veículos particulados. Exemplos de veículos particulados incluem aqueles derivados de polímeros de polimetil metacrilato, bem como micropartículas derivadas de poli(lactídeos) e poli(lactídeo-co-glicolídeos), conhecidos como PLG. Veja, por exemplo, Jeffery e cols., *Pharm. Res.* (1993) 10:362-368; e McGee e cols., *J Microencap.* (1996).

Formas de liberação

As composições de ibudilast aqui descritas englobam todos os tipos de formulações, e em particular, aquelas que são adequadas para administração sistêmica ou intratecal. Formas de dosagem oral incluem comprimidos, losangos, cápsulas, xaropes, suspensões orais, emulsões, grânulos, e péletes. Formulações alternativas incluem aerossóis, emplastros transdérmicos, géis, cremes, pomadas, supositórios, pós ou liofilizados que podem ser reconstituídos, bem como líquidos. Exemplos de diluentes adequados para reconstituição de composições sólidas, por exemplo, antes da injeção, incluem água bacteriostática para injeção, dextrose 5% em água, solução salina tamponada por fosfato, solução de Ringer, solução salina, água estéril, água deionizada, e combinações desses com relação a composições farmacêuticas líquidas, soluções e suspensões são previstos.

Em relação a formulações de liberação oral,

comprimidos podem ser feitos por compressão ou moldagem, opcionalmente com um ou mais ingredientes acessórios ou aditivos. Os comprimidos compressos são preparados, por exemplo, por compressão em máquina de formação de comprimidos adequada, os ingredientes ativos em uma forma de fluxo livre como um pó ou grânulos, opcionalmente misturados com um ligante (por exemplo, povidona, gelatina, hidroxipropilmetil celulose), lubrificante, diluente inerte, conservante, desintegrante (por exemplo, sódio amido glicolato, povidona entrecruzada, carboximetil celulose de sódio entrecruzada) e/ou agente ativos de superfície ou de dispersão.

Comprimidos moldados são feitos, por exemplo, por moldagem em uma máquina de formação de comprimidos adequada, uma mistura de compostos em pó umedecidos com um diluente líquido inerte. Os comprimidos podem ser opcionalmente revestidos ou marcados, e podem ser formulados de modo a fornecer liberação lenta ou controlada dos ingredientes ativos, com o uso, por exemplo, de hidroxipropilmetil celulose em proporções variáveis para fornecer o perfil de liberação desejado. Os comprimidos podem ser opcionalmente fornecidos com um revestimento, como um filme fino, revestimento de açúcar, ou um revestimento entérico para fornecer liberação em partes do intestino outras que não o estômago. Processos, equipamento, e fabricantes de comprimidos e cápsulas são bem conhecidos na técnica.

Formulações para administração tópica 1 na boca incluem losangos que compreendem os ingredientes ativos, geralmente em uma base aromatizada como sacarose e acácia

ou tragacanto e pastilhas que compreendem os ingredientes ativos em uma base inerte como gelatina e glicerina ou sacarose e acácia.

Uma composição farmacêutica para administração tópica também pode ser formulada como uma pomada, creme, suspensão, loção, pó, solução, pasta, gel, spray, aerossol ou óleo.

Alternativamente, a formulação pode estar na forma de um emplastro (por exemplo, um emplastro transdérmico) ou um curativo como uma bandagem ou emplastro adesivo impregnado com ingredientes ativos e opcionalmente um ou mais excipientes ou diluentes. As formulações típicas podem incluir adicionalmente um composto que aumente a absorção ou penetração dos ingredientes através da pele ou de outras áreas afetadas, como dimetilsulfóxido bisabolol, ácido oléico, isopropil miristato, e D-limoneno, para nomear alguns.

Para emulsões, a fase oleosa é constituída de ingredientes conhecidos em uma maneira conhecida. Embora essa fase possa compreender apenas um emulsificante (conhecido como um emulgente), ela desejavelmente compreende uma mistura de pelo menos um emulsificante com uma gordura e/ou um óleo. Preferivelmente, um emulsificante hidrofílico é incluído junto com um emulsificante lipofílico que age como um estabilizante. Juntos, os emulsificantes com ou sem estabilizantes constituem a chamada cera emulsificante, e a cera junto com o óleo e/ou gordura constituem a chamada base de pomada emulsificante que forma a fase dispersa oleosa de formulações em creme. Emulsificantes de emulgentes e emulsões ilustrativos

incluem Tween 60, Span 80, cetoestearil álcool, miristil álcool, gliceril monoestearato e sódio lauril sulfato.

Formulações para administração retal são tipicamente na forma de um supositório com uma base adequada que compreende, por exemplo, manteiga de cacau ou um salicilato.

Formulações adequadas para administração vaginal geralmente têm a forma de um supositório, tampão, creme, gel, pasta, espuma ou spray.

Formulações adequadas para administração nasal, em que o veículo é um sólido, incluem um pó grosseiro que tem um tamanho de partícula, por exemplo, na faixa de cerca de 20 a cerca de 500 mícrons. Tal formulação é tipicamente administrada por inalação rápida através da via nasal, por exemplo, a partir de um recipiente do pó seguro na proximidade da narina. Alternativamente, a formulação para liberação nasal pode estar na forma de um líquido, por exemplo, um spray nasal ou gotas nasais.

Formulações que podem estar em aerossol para inalação podem estar na forma de pó seco (por exemplo, adequadas para administração por um inalador de pó seco), ou, alternativamente, podem estar em forma líquida, por exemplo, para uso em um nebulizador. Nebulizadores para liberação de uma solução em aerossol incluem AERx™ (Aradigm), Ultravent® (Mallinkrodt), e Acorn II® (Marquest Medical Products). A composição da invenção também pode ser liberada com o uso de um inalador de dose pressurizada, medida (MDI), por exemplo, o inalador de dose medida Ventolin®, que contém uma solução ou suspensão de uma combinação de medicamentos aqui descritos em um propelente

líquido farmaceuticamente inerte, por exemplo, um clorofluorcarbono ou fluorcarbono.

Formulações adequadas para administração parenteral incluem soluções estéreis isotônicas aquosas e não aquosas adequadas para injeção, bem como suspensões estéreis aquosas e não aquosas.

Formulações parenterais da invenção são opcionalmente contidas em recipientes selados de dose unitária ou de multi-doses, por exemplo, ampolas e frascos, e podem ser estocadas em um condição liofilizada que requer apenas a adição do veículo líquido estéril, por exemplo, água para injeções, imediatamente antes do uso. Soluções e suspensões de injeção extemporânea podem ser preparadas a partir de pós estéreis, grânulos e comprimidos dos tipos previamente descritos.

Uma formulação da invenção também pode ser uma formulação de liberação sustentada, de modo que cada um dos componentes do medicamento é liberado ou absorvido lentamente com o tempo, quando comparada e uma formulação de liberação não sustentada. Formulações de liberação sustentada podem empregar formas de pr´-fármaco do agente ativo, sistemas de liberação de medicamento de liberação retardada como lipossomos ou matrizes de polímero, hidrogéis, ou ligação covalente de um polímero como polietileno glicol ao agente ativo.

Além dos ingredientes particularmente mencionados acima, as formulações da invenção podem incluir opcionalmente outros agentes convencionais na técnica farmacêutica e tipos particulares de formulação sendo empregados, por exemplo, para formas de administração oral,

a composição para administração oral também pode incluir agentes adicionais como agentes adoçantes, espessantes ou flavorizantes.

As composições da presente invenção também podem ser preparadas em uma forma adequada para aplicações veterinárias.

Método de administração

Como apresentado acima, métodos preferidos de liberação de formulações terapêuticas baseadas em ibudilast para o tratamento de dependências incluem liberação sistêmica e localizada, ou seja, diretamente no sistema nervoso central. Tais vias de administração incluem, sem limitação, vias oral, intra-arterial, intratecal, intramuscular, intraperitoneal, subcutânea, intravenosa, intranasal, e por inalação.

Mais particularmente, uma formulação que contém ibudilast da presente invenção pode ser administrada para terapia por qualquer via adequada, incluindo, sem limitação, oral, retal, nasal, tópica (incluindo transdérmica, aerossol, bucal e sublingual), vaginal, parenteral (incluindo subcutânea, intramuscular, intravenosa e intradérmica), intratecal, e pulmonar. A via preferida, de fato, irá variar com a condição e idade do receptor, da síndrome particular associada à neuralgia sendo tratada, e da combinação específica de medicamentos empregada.

Um modo preferido de administração para liberação de ibudilast é diretamente ao tecido neural como nervos periféricos, a retina, gânglios de raiz dorsal, junção neuromuscular, bem como o SNC, por exemplo, para visar as

células da glia da medula espinhal por injeção, por exemplo, na região ventricular, bem como no estriado (por exemplo, o núcleo caudado ou putamen do corpo estriado), medula espinhal e junção neuromuscular, com uma agulha, cateter ou dispositivo relacionado, com o uso de técnicas neurocirúrgicas conhecidas, como por injeção estereotática (veja, por exemplo, Stein e cols., *J. Virol.* 73:3424-3429, 1999; Davidson e cols., *PNAS* 97:3428-3432, 2000 ; Davidson e cols., *Nat.Genet.* 3:219-223, 1993; e Alisky e Davidson, *Hum. Gene Ther.* 11:2315-2329, 2000).

Um método particularmente preferido para visar a glia da medula espinhal é por liberação intratecal, em vez de ao tecido da medula em si.

Um outro método preferido para administração de composições com base em ibudilast da invenção é por liberação aos neurônios dos gânglios da raiz dorsal (DRG), por exemplo, por injeção no espaço epidural com subseqüente difusão aos DRG. Por exemplo, uma composição com base em ibudilast pode ser liberada via cânula intratecal sob condições em que ibudilast é difundido ao DRG. Veja, por exemplo, Chiang e cols., *Acta Anaesthesiol. Sin.* (2000) 38:31-36; Jain, K.K., *Expert Opin. Investig. Drugs* (2000) 9:2403-2410.

Ainda um outro modo de administração ao SNC usa um sistema de liberação intensificado por condução. Dessa forma, ibudilast pode ser liberado a várias células por grandes áreas do SNC. Qualquer dispositivo de liberação intensificada por condução pode ser adequado para liberação de ibudilast. Em uma modalidade preferida, o dispositivo é uma bomba osmótica ou uma bomba de infusão. Tanto a bomba

osmótica quanto a de infusão são comercialmente disponíveis por vários fornecedores, por exemplo Alzet Corporation, Hamilton Corporation, Alza, Inc., Palo Alto, California). Tipicamente, uma composição com base em ibudilast da invenção é liberada via dispositivos de CED como se segue. Um cateter, cânula ou outro dispositivo de injeção é inserido no tecido do SNC no indivíduo escolhido. Mapas estereotáticos e dispositivos de posicionamento são disponíveis, por exemplo, de ASI Instruments, Warren, MI. O posicionamento também pode ser conduzido pelo uso de mapas anatômicos obtidos por imagem de TC e/ou RMN para ajudar a guiar o dispositivo de injeção ao local escolhido. Para uma descrição detalhada com relação a liberação por CED, veja a Patente U.S. No. 6.309.634.

Uma composição de ibudilast da invenção, quando compreende mais de um agente ativo, pode ser administrada como uma composição de combinação única que compreende uma combinação de ibudilast e pelo menos um agente ativo adicional eficaz no tratamento of dependência. Em termos de conformidade do paciente e facilidade de administração, tal abordagem é preferida, uma vez que os pacientes são freqüentemente contrários a múltiplas pílulas ou múltiplas formas de dosagem, freqüentemente várias vezes ao dia, pela duração do tratamento. Alternativamente, embora menos preferivelmente, a combinação da invenção é administrada como formas de dosagem separadas. Em casos em que os medicamentos que compreendem a composição terapêutica da invenção são administrados como formas de dosagem separadas e co-administração é necessária, ibudilast e cada um dos agentes ativos adicionais pode ser administrado

simultaneamente, seqüencialmente em qualquer ordem, ou separadamente.

Kits

Também é fornecido aqui um kit que contém pelo menos uma composição de combinação da invenção, acompanhado por instruções para uso.

Por exemplo, em casos em que cada um dos medicamentos são administrados como formas de dosagem individuais ou separadas, o kit compreende ibudilast em adição a cada um dos medicamentos que constituem a composição da invenção, junto com instruções para uso. Os componentes do medicamento podem ser embalados em qualquer maneira adequada para administração, desde que a embalagem, quando considerada junto com as instruções para administração, indique claramente a maneira em que cada um dos componentes deve ser administrado.

Por exemplo, para um kit ilustrativo que compreende ibudilast e naltrexona, o kit pode ser organizado por qualquer período de tempo adequado, como por dia. Como um exemplo, para dia 1, um kit representativo pode compreender dosagens unitárias de cada um de ibudilast e naltrexona. Se cada um dos medicamentos deve ser administrado duas vezes ao dia, então o kit pode conter, correspondente ao dia 1, duas fileiras de formas de dosagem unitária de cada um de ibudilast e naltrexona, junto com instruções para o tempo de administração. Alternativamente, se um ou mais dos medicamentos difere no momento ou quantidade de forma de dosagem unitária para ser administrado em comparação aos membros do medicamento da combinação, então isso seria refletido na embalagem e instruções. Várias modalidades de

acordo com o acima podem ser facilmente previstas, e devem depender da combinação particular de medicamentos, além de ibudilast, empregados para o tratamento, suas formas de dosagem correspondentes, dosagens recomendadas, população de pacientes pretendida e outros. A embalagem pode estar em qualquer forma comumente empregada para a embalagem de fármacos, e pode utilizar qualquer número de características como cores diferentes, invólucros, embalagem resistente ao manuseio, embalagem em blister, dessecantes e outros.

Dosagens

Quantidades terapêuticas podem ser empiricamente determinadas e irão variar com a condição particular sendo tratada, do indivíduo, e da eficácia e toxicidade de cada um dos agentes ativos contidos na composição. A dose real a ser administrada irá variar dependendo da idade, peso e condição geral do indivíduo bem como da severidade da condição sendo tratada, do julgamento do profissional de saúde, e da combinação particular sendo administrada.

Quantidades terapeuticamente eficazes podem ser determinadas por aqueles habilitados na técnica, e serão ajustadas às necessidades de cada caso em particular. Geralmente, a quantidade terapeuticamente eficaz de ibudilast irá variar de uma dosagem diária total, por exemplo em humanos, de cerca de 0,1 e 500 mg/dia, mais preferivelmente, em uma quantidade entre 1 e 200 mg/dia, 1 e 100 mg/dia, 1 e 40 mg/dia, ou 1 e 20 mg/dia. A administração pode ser uma a três vezes ao dia pela duração de um dia a vários dias, semanas, meses, e mesmo anos, e ainda pode ser por toda a vida do paciente.

Na prática, uma dose unitária de qualquer composição dada da invenção ou agente ativo pode ser administrada em vários esquemas de dosagem, dependendo do julgamento do profissional, necessidades do paciente, e assim por diante. O esquema de dosagem específico será conhecido por aqueles de habilidade comum na técnica ou pode ser determinado experimentalmente como o uso de métodos rotineiros. Exemplos de esquemas de dosagem incluem, sem limitação, administração cinco vezes ao dia, quatro vezes ao dia, três vezes ao dia, duas vezes ao dia, uma vez ao dia, em dias alternados, três vezes por semana, duas vezes por semana, uma vez por semana, duas vezes por mês, uma vez por mês e assim por diante.

III. EXPERIMENTAL

Abaixo estão exemplos de modalidades específicas para realização da presente invenção. os exemplos são oferecidos para objetivos ilustrativos apenas, e não devem limitar de qualquer modo o escopo da presente invenção.

Foram feitos esforços para assegurar a precisão com relação aos números usados (por exemplo, quantidades, temperaturas etc.), mas algum erro experimental e desvios podem ser permitidos.

EXEMPLO 1

Farmacocinética e distribuição em tecido de ibudilast em rato

A farmacocinética e distribuição de ibudilast em plasma, músculo, cérebro e medula espinhal foram avaliados como se segue.

Procedimentos experimentais

Ibudilast para administração a ratos foi preparado em

15% etanol/solução salina. A estabilidade e concentração do medicamento foram validadas por HPLC/MS/MS.

Ratos machos adultos Sprague-Dawley livres de patógeno (280-350 g; Harlan Labs) foram usados em todos os experimentos. Ratos foram abrigados em temperatura (23 +/- 3°C) e luz(12:12 luz:escuridão;luzes ligadas às 7 horas) ambientes controlados com ração padrão de roedor e água disponível à vontade. O teste comportamental foi realizado durante o ciclo de luz.

Ratos (n=3/grupo) foram administrados com 5 mg/kg ibudilast, i.p., e plasma, músculo, cérebro, e medula espinhal foram coletados em 5, 15, 60, 180, e 420 minutos após a administração. A concentração de ibudilast em amostras de tecido foi determinada como se segue. Uma solução de ibudilast (Haorui) a 0,5 mg/ml em DMSO foi usada como a solução de estoque de referência de trabalho. Os padrões de calibragem em plasma foram preparados por diluição de cada estoque de 0,5 mg/ml 1 em 100 em plasma de rato a 5.000 ng/ml (5 µl + 495 µl), e então diluídos a 2,29 ng/ml por diluição em série de 3 vezes com plasma. Os padrões foram usados como amostras de QC baixo, médio e alto, respectivamente.

Os padrões de calibragem, QC e amostras de estudo de plasma foram preparados para injeção de HPLC por precipitação de plasma com três volumes (75 µl) de acetonitrila gelada contendo 50 ng/ml difenidramina e 100 ng/ml dextrometorfan como os padrões internos. As amostras de estudo de tecido foram preparadas para injeção de HPLC por adição de 1 µl de água por mg de tecido mais três volumes (relativos a água) de acetonitrila gelada contendo

50 ng/ml difenidramina e 100 ng/ml dextrometorfan como os padrões internos, então homogeneização com um homogeneizador elétrico. Após centrifugação a 6.100 g por 30 minutos, 40 µl de cada sobrenadante foram diluídos com 200 µl de 0,2% ácido fórmico em água e analisados sob as seguintes condições de LC/MS/MS:

HPLC:	Shimadzu VP System
Fase móvel:	0,2% ácido fórmico em água (A) e em metanol (B)
Coluna:	2 x 10 mm "Peeke Scientific DuraGel G C_{18} guard cartridge"
Volume de injeção:	100 µl
Gradiente:	5-95% B em 2 minutos depois de uma lavagem de 0,75 minuto
Taxa de fluxo:	400 µl/min
Espectrômetro de massa:	Applied Biosystems/MDS SCIEX API 3000
Interface:	TurbolonSpray (ESI) a 400 °C
Modo de ionização:	íon positivo
Íons Q1/Q3:	231,2/161,2 para Ibudilast (IBUDILAST)

Resultados

Como mostrado na Figura 1, a administração intraperitoneal de ibudilast gerou boas concentrações plasmáticas que declinaram de C_{max} em uma maneira bifásica. Ibudilast foi bem distribuído para tecidos periféricos (por exemplo músculos) e centrais (por exemplo cérebro e medula espinhal). A concentração máxima (C_{max}) em plasma e tecidos do SNC foi ~1 µg/mL após administração i.p. de~5mg/kg

ibudilast formulado como descrito. a meia-vida de eliminação variou de 100-139 min em todos os compartimentos teciduais.

EXEMPLO 2

Eficácia de ibudilast em um modelo de rato de abstinência à morfina

Um estudo que durou aproximadamente uma semana foi realizado para avaliar o potencial para co-tratamento de ibudilast para reduzir a intensidade e duração de comportamentos de abstinência à morfina.

Procedimentos experimentais

Ibudilast foi obtido como um pó puro de Sigma (St. Louis, MO) ou Haorui Pharma (Edison, NJ) e preparado diariamente como uma solução para administração intraperitoneal (i.p.). estudos prévio de avaliação de faixas de tolerabilidade e eficácia em outros modelos neurológicos indicaram que ibudilast foi bem tolerado por via intraperitoneal em níveis de dose de até 15 mg/kg duas vezes ao dia (bid) por múltiplos dias. A eficácia de ibudilast após a administração intraperitoneal foi representativa de outras vias sistêmicas de administração como tratamento oral. Uma quantidade adequada de ibudilast foi dissolvida em 100% polietileno (PEG) 400 (Sigma) e então diluída até uma concentração final de 35% PEG400 em solução salina estéril (0,9% para injeção).

Ibudilast foi administrado a 2,5 mg/kg (0,9 ml/kg de 2,8 mg/ml em 35% PEG/salina), ou 7,5 mg/kg (2,7 ml/kg de 2,8 mg/ml em 35% PEG/salina) a cada manhã (tipicamente 9 am) e tarde (tipicamente 4 pm). A estabilidade e concentração do medicamento foram validadas por HPLC/MS/MS.

Ratos machos adultos Sprague-Dawley livres de patógeno (280-350 g; Harlan Labs) foram usados em todos os experimentos. Ratos foram abrigados em temperatura (23 +/- 3°C) e luz(12:12 luz:escuridão;luzes ligadas às 7 horas) ambientes controlados com ração padrão de roedor e água disponível à vontade. O teste comportamental foi realizado durante o ciclo de luz. A aprovação do "Institutional Animal Care" e "Use Committee" na Universidade do Colorado foi obtida para todos os procedimentos.

O esquema para tratamento com morfina (via injeções subcutâneas) foi com se segue: Dia 1: 5 mg/kg a 1.000 hr, 5 mg/kg a 1.300 hr, 5 mg/kg a 1.700 hr; Dia 2: 5 mg/kg a 1.000 hr, 12,5 mg/kg a 1.700 hr; Dia 3: 15 mg/kg a 1.000 hr; Dia 4: 17,5 mg/kg a 1.000 hr; Dia 5: 5 mg/kg a 1.000 hr, 17,5 mg/kg a 1.200 hr.

Ratos receberam morfina de acordo com o esquema acima, mais solução salina (n=4), veículo PEG (n=5), 2,5 mg/kg ("baixa dose") ibudilast (n=4), ou 7,5 mg/kg ("alta dose") ibudilast (n=5) de acordo com o seguinte esquema: os dois dias antes do início de morfina: diariamente a 1.000 horas e 1.700 hr; Dias 1-4 de regime de morfina: diariamente a 1.000 horas e 1.700 hr; Dia 5 de regime de morfina: a 1.000 horas e 1.200 hr. Os ratos então receberam 5 mg/kg naloxona a 1.245 horas no Dia 5, 45 minutos depois da última dose de morfina e/ou ibudilast, solução salina ou veículo.

Os sinais de abstinência medidos foram: (1) postura anormal (um animal pressiona seu abdome e mandíbula contra o piso da gaiola); (2) exploração (um animal circula ao redor da gaiola, empurrando sua cabeça em várias direções e examina suas cercanias); (3) pulando; (4) limpando

(varrendo); (5) levantando-se (um animal se levanta sobre suas patas traseiras com as patas dianteiras fora do solo). A incidência total de todos os cinco comportamentos estereotipados em 10 minutos de observação foi pontuado de acordo com a seguinte escala: 0 = nenhum apresentou; 1 = 1-5 episódios de um comportamento; 2 = 6-10 episódios de um comportamento; 3 = 11-15 episódios de um comportamento; 4 = 16-20 episódios de um comportamento 5 = 21 ou more episódios de um comportamento.

As pontuações de abstinência foram mediadas por observados idôneos em blocos de 10 minutos por 60 minutos imediatamente depois da abstinência precipitada por naloxona ter se iniciado. As observações foram reunidas de 1-10 minutos, 11-20 minutos, 21-30 minutos, 31-40 minutos, 41-50 minutos, 51-60 minutos para cada rato individual após a administração de naloxona, gerando seis pontos de tempo. A pontuação média (para cada ponto de tempo) para todos os animais em um grupo experimental foi relatada como a "pontuação de abstinência total " nas Figuras 2A-2D.

Resultados

As Figuras 2A-2D demonstram que tratamento com ibudilast foi eficaz na redução da magnitude e duração das manifestações fisiológicas clássicas de síndrome de abstinência à morfina precipitada por naloxona. Embora o veículo PEG não tenha tido qualquer efeito sobre esses comportamentos, comparado a controles de solução salina (Figura 2A), ibudilast revelou uma redução dependente de dose desses comportamentos (Figuras 2B-2D). embora a baixa dose de ibudilast (2,5 mg/kg) não tivesse efeito comparado com controles de solução salina (Figura 2C), a alta dose de

ibudilast (7,5 mg/kg) atenuou consideravelmente os sinais de abstinência (Figura 2B; apresentados como um gráfico em barra na Figura 2D).

EXEMPLO 3

Supressão por ibudilast da liberação de dopamina no núcleo acumbens

Procedimentos experimentais

Acredita-se que a liberação de dopamina no núcleo acumbens medeia a "recompensa" associada como drogas de vício. Ibudilast suprimiu a liberação de dopamina no núcleo acumbens, como medido por microdiálise *in vivo*. Ibudilast sistêmico (7,5 mg/kg b.i.d.) foi co-administrado com morfina sistêmica a ratos (6 ratos/grupo) por 5 dias, usando o regime de morfina descrito no Exemplo 1. Na manhã do 6° dia, os ratos receberam ibudilast uma hora antes do início de amostragem de base. Depois de 3 amostras de base (20 minutos de intervalo entre as amostras), morfina foi administrada a todos os ratos. Amostras de diálise foram coletadas em intervalos de 20 minutos por 180 minutos. Para testar a abstinência comportamental e reversão da dopamina induzida por morfina, todos os ratos foram administrados com o antagonista de opióide naloxona depois do tempo de amostragem de 60 minutos estar completo.

Resultados

Como mostrado na Figura 3, ratos tratados com ibudilast exibiram indicadores ou mediadores significativamente suprimidos de "recompensa" como evidenciado por liberação suprimida de dopamina no núcleo acumbens em resposta a morfina. Ibudilast não diminuiu os níveis basais de dopamina. O antagonista de opióide

naloxona reverteu a liberação de dopamina induzida por morfina, que mostra que a liberação de dopamina foi, de fato, devida aos efeitos da morfina. Os ratos repetitivamente co-administrados com ibudilast e morfina mostraram sinais suprimidos de abstinência comportamental induzida por naloxona, comparados a ratos repetitivamente administrados com veículo de PEG-solução salina e morfina (veja a Figura 4).

Conclusão

Os resultados dos níveis de dopamina de microdiálise de cérebro e concomitantes repostas comportamentais de abstinência a opiáceos indicam que o tratamento com ibudilast de ratos reduz significativamente um mediador neuroquímico (dopamina) de recompensa ou proeminência e manifestações comportamentais de dependência de opiáceos. Tais resultados indicam que ibudilast será útil para o tratamento de múltiplas formas de dependência.

EXEMPLO 4

Ibudilast reduz o desenvolvimento de dependência à morfina e ativação de células da glia central

Procedimentos experimentais

Ratos (n=10/grupo) receberam morfina de acordo com o esquema descrito acima no Exemplo 2, mais ou solução salina, ou veículo PEG, ou 2,5 mg/kg ("baixa dose") de ibudilast, ou 7,5 mg/kg ("alta dose") de ibudilast de acordo com o seguinte esquema: os dois dias antes do início de morfina: diariamente a 1.000 horas e 1.700 hr; Dias 1-4 de regime de morfina: diariamente a 1.000 horas e 1.700 horas; Dia 5 de regime de morfina: a 1.000 horas e 1.200 horas. Os ratos então receberam 5 mg/kg de naloxona a 1.245

horas no Dia 5, 45 minutos após a última dose de morfina e/ou ibudilast, solução salina ou veículo.

Após pontuação dos comportamentos de abstinência os animais receberam uma injeção intraperitoneal de 0,8 ml de 50 mg/ml pentobarbital sódico, e uma vez anestesiados, os animais foram perfundidos por via transcardíaca. Metade de cada grupo de tratamento foram perfundidos com solução salina e metade com 4% paraformaldeído. Medula espinhal e cérebros foram coletados (perfusão de solução salina para quantificação de proteína e mRNA e perfusão com paraformaldeído para imuno-histoquímica). As amostras coletadas de animais perfundidas com solução salina foram congeladas em nitrogênio líquido e estocadas a -80°C. As amostras perfundidas com paraformaldeído foram estocadas em 4% paraformaldeído por 48 horas e então transferidas para 30% sacarose (0,1 % azida) até a secção do tecido.

Imuno-reatividade para OX-42 (anticorpo que reconhece receptores de complemento tipo 3, por exemplo, CD11b) e/ou proteína ácida glial fibrilar (GFAP), a ativação de microglia e marcadores de astrócito, respectivamente, foram avaliadas. As secções (20 μm) foram tratadas com 0,3% H_2O_2 em solução salina tamponada por Tris (TBS) por 20 minutos em temperatura ambiente para suprimir a atividade endógena de peroxidase. As secções foram então incubadas de um dia para o outro a 4°C em anticorpo OX-42 monoclonal anti-rato de camundongo (1:100; Pharmingen, San Diego, CA) ou GFAP monoclonal anti-rato de camundongo (1:200; Chemicon, Temecula, CA) em TBS com 2% de soro normal de cabra e 0,5% Triton-X-100. Subseqüentemente, as secções foram incubadas com os anticorpos secundários biotinilatados adequados

(1:400; Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) por 2 horas em temperatura ambiente, incubadas em solução de complexo avidina–biotina (ABC; 1:200; Vector Laboratories, Burlingame, CA) por 2 horas em temperatura ambiente, seguido por reação com 0,5 mg/ml de tetracloridrato de 3,3'-diaminobenzidina (DAB; Sigma). Finalmente, as secções foram secas, desidratadas, e cobertas com lâmina Permount. A coloração foi avaliada por microscopia em luz. Densitometria de coloração imuno-histoquímica foi subseqüentemente avaliada com o uso de programa de computador (imagem NIH).

A amplificação de cDNA foi realizada com o uso do kit QUANTITECT SYBR GREEN PCR (Qiagen, Valencia, CA) em placas de PCr de 96 cavidades ICYCLER IQ (Bio-Rad, Hercules, CA) em um sistema de detecção de PCR de tempo real de cor única MYIQ (Bio-Rad). A mistura de reação (26 µl) foi composta de 1x "mistura master" QUANTITECT SYBR GREEN PCR (contendo o corante fluorescente SYBR verde I, 2,5 mM $MgCl_2$, mistura dNTP, e HOTSTART Taq DNA polimerase), 10 nM fluoresceína, 500 nM cada de iniciadores adiante e reverso, 25 ng cDNA e H_2O livre de nuclease. As reações foram feitas em triplicata (n=3-6 animais/grupo). As condições da reação foram 15 minutos iniciais a 95°C, seguidos por 40 ciclos de 15 segundos a 94 °C, 30 segundos a 55-60 °C, e 30 segundos a 72 °C. Análise de curva de fusão foram conduzidas para avaliar a uniformidade da formação do produto, formação iniciador-dímero, e amplificação de produtos não específicos. A linearidade e eficiência de amplificação por PCR foram avaliadas por curvas padrão geradas por quantidades crescentes de cDNA. Fluorescência de verde 1

SYBR (formação de produto de PCR) foi monitorada em tempo real com o uso do sistema de detecção de PCR de tempo real de cor única MYIQ (Bio-Rad). O limiar para detecção de produto de PCR foi ajustado na fase log-linear de amplificação e o ciclo de limiar (CT, o número de ciclos para atingir o limiar de detecção) foi determinado para cada reação. os níveis do mRNAs visados foram quantificados em relação ao nível do gene *housekeeping* gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH) com o uso de método de TC comparativa (ACT) (Livak e Schmittgen, 2001). A expressão do gene *housekeeping* não foi significativamente alterada por tratamento experimental.

Resultados

A. Mudanças de peso

Os animais tratados com ibudilast mostraram reduzida perda de peso corporal comparados aos animais tratados com veículo durantes os primeiros 2 dias de tratamento (9,3 ± 6,3 g para animais tratados com 7,5 mg/kg ibudilast; 10,4 ± 5,6 g para animais tratados com 2,5 mg/kg ibudilast; e 1 ± 4,4 g para animais tratados com veículo). Portanto, os dados foram normalizados para pesos na manhã em que os animais iniciaram o tratamento com morfina (assim removendo a perda de peso induzida por ibudilast durantes os primeiros 2 dias). No dia 7, a perda de peso induzida por morfina foi 13,3 ± 7,1 g em animais tratados com 7,5 mg/kg ibudilast, 16,6 ± 5,7 g em animais tratados com 2,5 mg/kg ibudilast, e 18,2 ± 6,6 g em animais tratados com veículo. A perda de peso corporal é um marcador clássico e objetivo de abstinência em modelos de opiáceo em rato e a atenuação por alta dose de ibudilast apóia o benefício fisiológico

durante a abstinência a opiáceos.

B. Comportamentos de abstinência

Como mostrado na Figura 5, tratamento com ibudilast em dosagens de 2,5 mg/kg e 7,5 mg/kg resultaram em uma redução dramática de comportamentos de abstinência precipitados por naloxona durante um período de observação de 60 minutos. Em uma base comportamental individual, o tratamento com ibudilast resultou em reduções em todos os comportamentos exceto por elevação, exploração e sacudidas de "cachorro molhado", enquanto nenhuma mudança foi observada em animais tratados com veículo. Os dados são apresentados na Figura 5 como a soma dos comportamentos totais de abstinência observados durante cada bloco de dez minutos para todos os animais no estudo (n=10/tratamento grupo).

C. Imuno-histoquímica do cérebro

A análise de imuno-histoquímica foi conduzida em amostras de cérebro coletadas de ratos após perfusão com paraformaldeído. O marcador de ativação da microglia CD11b e marcador de astrócito GFAP foram investigados. Como pode ser observado na Figura 6, a administração crônica de morfina causou visível supra-regulação de marcador da ativação de microglia CD11b. O tratamento com ibudilast reduziu dramaticamente a aumento no marcador CD11b. A análise de densitometria (Figura 7) revelou que ibudilast causou uma redução significativa no marcador de ativação da microglia CD11b em 2 regiões do cérebro, a cinzenta periaquedutal e o homólogo do cérebro do corno dorsal da medula espinhal, o núcleo do trigêmeo.

D. Análise de mRNA de núcleo cerebral

mRNA de interleucina-1 de amostras de tecido de

cérebro foi quantificado. Morfina causou um grande aumento no mRNA de interleucina-1 na região cinzenta periaquedutal dorsal, mas não na região cinzenta periaquedutal ventral (Figura 8). Ibudilast bloqueou completamente o aumento induzido por morfina no mRNA de interleucina-1 na região cinzenta periaquedutal dorsal.

Conclusão

Ibudilast administração durante tratamento com morfina resulta em ativação de células da glia e produção de citocinas pró-inflamatórias significativamente reduzidas no cérebro de animais tratados. Com abstinência precipitada por naloxona, os animais que recebem ibudilast apresentam respostas comportamentais significativamente reduzidas indicando que tratamento com ibudilast atenua a neuroinflamação e sintomas comportamentais associados com a síndrome de abstinência a opiáceos.

EXEMPLO 5

Ibudilast reverte dependência à morfina e abstinência espontânea a opióides

Procedimentos experimentais

Ratos machos adultos livres de patógeno Sprague–Dawley foram usados em todos os experimentos. Ratos (350-375 g no momento da chegada; Harlan Labs, Madison, WI) foram abrigados em temperatura (23 ± 3°C) e luz (e luz(12:12 luz:escuridão;luzes ligadas às 7 horas) ambientes controlados com ração padrão de roedor e água disponível à vontade. Todos os procedimentos foram aprovados pelo "Institutional Animal Care" e "Use Committee" na Universidade do Colorado em Boulder. Após a chegada dos ratos machos Sprague Dawley (300-400g) eles foram abrigados

individualmente e deixados em aclimatização à sala de telemetria de colônia animal por uma semana. Sessões de 5 x 90 minuto de manuseio por investigadores foram realizadas durante a semana seguinte.

Os ratos foram anestesiados com isoflurano, e emissores para medir a temperatura corporal central (MiniMitter, Sun River, OR) foram implantados na cavidade peritoneal. O movimento motor grosseiro foi avaliado por telemetria com o uso dos mesmos emissores usando para registrar a temperatura corporal central. O emissor tinha que se mover para que a atividade fosse contada; assim, movimento estacionário como asseio não foram contados. As contagens de atividade e temperatura corporal central foram medidas a cada minuto e a média de movimento a por 120 minutos foi calculada (assim uniformizando os dados). O registro de dados de telemetria ocorreu por todo o experimento. Os períodos de tempo em que os experimentadores entraram na sala de brigo foram eliminados das análises uma vez que esses produziram atividade aumentada e, portanto, erro. No momento do implante da telemetria, os animais foram implantados com 2 minibombas osmóticas subcutâneas lombares 2ML2 (Alzet, Cupertino, CA), cada uma liberando cerca de 5 µl por hora por 14 dias (portanto um total combinado de 10 µl por hora). Uma bomba teve um comprimento de tubo PE60 pré-carregado com solução salina para retardar a liberação de morfina por 2 dias. Portanto, as bombas liberaram 6,25 mg de morfina (ou solução salina) por dia nos dias 1 e 2, então 12,5 mg por dia assim por diante. No dia 12, os animais iniciaram uma regime de ibudilast de 7 dia duas vezes ao dia (7,5 mg/kg

ou 2,5 mg/kg em 35% PEG em volume de dose de solução salina de 2,5 ml/kg) ou veículo (35% PEG em solução salina) (completando com a dose final na tarde do dia 18). A injeção da manhã ocorreu entre 8:45 AM e 9:15 AM, com a injeção da tarde ocorrendo entre 4:45 PM e 5:15 PM. No dia 14, as bombas foram removidas para precipitar abstinência espontânea a opióides (em animais que recebem morfina). Os pesos corporais foram registrados antes de cada sessão de dosagem para permitir um cálculo preciso de dose e para rastrear a perda de peso induzida por opióide (também ocorreu nos dias quando nenhuma dosagem foi conduzida).

Resultados

Ibudilast protegeu os animais da a perda de induzida por abstinência espontânea a opióide. Como mostrado na Figura 9, apenas uma tendência para melhor mudança de peso foi observada na menor dose de ibudilast, mas na maior dose, ibudilast atenuou substancialmente a perda de peso. O ponto final da atenuação da perda de peso é considerada uma importante medição objetiva da abstinência reduzida em ratos.

EXEMPLO 6

Microdiálise de dopamina no núcleo acumbens após 20 dias de tratamento com morfina e ibudilast

Procedimentos experimentais

Ratos machos adultos livres de patógeno Sprague–Dawley foram usados em todos os experimentos. Ratos (350-375 g no momento da chegada; Harlan Labs, Madison, WI) foram abrigados em temperatura (23 ± 3°C) e luz (e luz(12:12 luz:escuridão;luzes ligadas às 7 horas) ambientes controlados com ração padrão de roedor e água disponível à

vontade. Todos os procedimentos foram aprovados pelo "Institutional Animal Care" e "Use Committee" na Universidade do Colorado em Boulder. Após a chegada dos ratos machos Sprague Dawley (300-400g) eles foram abrigados individualmente e deixados em aclimatização à sala de telemetria de colônia animal por uma semana. Sessões de 5 x 90 minuto de manuseio por investigadores e aclimatização dos animais ao ambiente de microdiálise foram realizadas durante a semana seguinte.

O implante da cânula guia de microdiálise foi realizado sob anestesia com halotano. Cânulas guias CMA 12 (CMA Microdiálise) foram dirigida ao núcleo acumbens direito ou esquerdo (AP=+1,7, LM=±0,8, DV=-6,0) em uma maneira contrabalançada. As coordenadas foram do bregma usando o atlas de Paxinos e Watson (1998). As cânulas guias e um parafuso de corrente (CMA Microdiálise) foram ancorados ao crânio com três parafusos de joalheiro e cimento dental. Os ratos foram individualmente abrigados depois da cirurgia e deixado em recuperação por uma semana.

Os animais então iniciaram um regime de dosagem de 7 dias (grupos de 6 animais por vez, n =10 por grupo de tratamento). por todos os 7 dias os animais receberam duas vezes ao dia injeções intraperitoneais de ibudilast (7,5 mg/kg ou 2,5 mg/kg em 35% PEG em solução salina volume de dose de 2,5 ml/kg) ou veículo (35% PEG em solução salina). A injeção da manhã ocorreu entre 8:45 AM e 9:15 AM, com a injeção da tarde ocorrendo entre 4:45 PM e 5:15 PM. No dia 3, os animais iniciaram um regime de dependência de morfina ou veículo de 5 dias (solução salina) (injeções subcutâneas de 1 ml/kg). Quando a morfina foi administrados na manhã ou

tarde, ela ocorreu 30 minutos após a injeção de ibudilast. O regime de dependência consistiu em dia 3: dose da manhã de 5 mg/kg, dose da tarde de 5 mg/kg, dose da noite 5 mg/kg; Dia 4: dose da manhã 7,5 mg/kg, dose da noite 12,5 mg/kg; Dia 5 dose da manhã de 15 mg/kg; Dia 6 dose da manhã 17,5 mg/kg; e Dia 7 dose da manhã de 22,5 mg/kg. Os pesos corporais foram registrados antes de cada sessão de dosagem para permitir um cálculo preciso de dose e para rastrear a perda de peso induzida por opióide.

Na tarde antes da microdiálise (dia 6 após a administração de morfina e ibudilast) os ratos foram transferidos para a sala de diálise que foi no mesmo ciclo de luz-escuridão como da sala de colônia. Sondas de microdiálise (CMA 12, valor de corte de peso molecular de 20.000 Da, 2 mm membrana ativa) foram inseridas nas cânulas guia e os ratos foram colocados em frascos de infusão de Plexiglas separados com alimento e água disponível à vontade. Solução de ringer (147 mM NaCl, 2,97 mM CaCl, 4,02 mM KCl; Baxter) foi perfundida através das sondas com o uso de uma bomba de infusão CMA em uma taxa de fluxo de 0,2 µl/min de um dia para o outro. A taxa de fluxo foi aumentada para 1,5 µl/min na manhã seguinte e, depois de um período de equilíbrio de 1 hora, a dose final de morfina foi administrada e iniciou a coleta de amostra e os dialisados foram coletados manualmente a cada 20 minutos e imediatamente colocados a -80 °C até a análise. Em um conjunto de animais a abstinência ao opióide foi precipitada com 10 mg/kg de naloxona subcutânea (dose volume 1 ml/mg) 60 minutos após a administração de morfina. Os tubos de coleta foram preenchidos com 3 µl de 0,02% EDTA

(anti-oxidante) em 1% etanol. Depois da coleta de três amostras de base, morfina ou veículo foi administrado na mesma maneira como descrito acima. Os dialisados foram analisados por HPLC em 2 semanas de coleta.

Dopamina nos dialisados foi determinada com o uso de um detector ESA 5600A COULARRAY com uma célula analítica ESA 5014B e uma célula guarda ESA 5020 conectada a uma coluna ESA HR80 (C18, 3 μm, 80 x 3 mm) que foi mantida a 30°C. A fase móvel foi 150 mM sódio dihidrogênio fosfato monohidrato, 4,76 mM monohidrato de ácido cítrico, 3 mM sódio dodecil sulfato, 50 μM EDTA, 10% metanol, e 15% acetonitrila, pH = 5,6 com hidróxido de sódio. Os potenciais foram ajustados a −75 e +220 mV, e o potencial da célula guarda foi ajustado a +250 mV. Injeções foram realizadas com um "autosampler ESA 542" com o uso de um volume de injeção de 27 μl. Comparações quantitativas foram feiras com padrões externos (Sigma-Aldrich, St Louis, MO) que foram feitos a cada dia.

Para verificar a colocação da sonda, os ratos foram sacrificados com 65 mg/kg i.p. de pentobarbital de sódio. Os cérebros foram removidos, congelados em isopentano frio, e cortados com cryostat (40 μm) a -20 °C. As secções foram montadas em lâminas tratadas com gelatina, coradas com cresil violeta, e cobertas com lamínula. Apenas os ratos com sondas colocadas no núcleo acumbens foram incluídos na análise.

Resultados

Tratamento COM ibudilast resultou em aumentos de dopamina no núcleo acumbens induzidos por morfina muito reduzidos em animais dependentes de morfina durante a

administração de morfina e durante abstinência a opióide precipitada por naloxona ou abstinência a opióide espontânea (Figuras 10 e 11). A Figura 10 mostra níveis de dopamina no núcleo acumbens reduzidos por ibudilast em animais dependentes de morfina durante abstinência a opióide precipitada por naloxona (10 mg/kg de naloxona foi administrada por via subcutânea por 60 minutos) em animais tratados com 7,5 mg/kg ibudilast. Figura 11 mostra que ibudilast também reduziu os níveis de dopamina no núcleo acumbens em animais dependentes de morfina após a administração de morfina (no tempo 0) durante abstinência a opióide espontânea em animais tratados com ibudilast (7,5 mg/kg) ou uma combinação de ibudilast e morfina.

Conclusões

O tratamento com ibudilast mostrou reduzir significativamente os níveis aumentados de dopamina observados no núcleo acumbens do cérebro pós tratamento com morfina em um modelo de trato de dependência à morfina. Uma vez que drogas viciantes causam dopamina aumentada no núcleo acumbens (e esse aumento é o que acredita-se mediar a "recompensa" associada com tais drogas), os resultados indicam que a terapia com ibudilast pode reduzir de modo similar a dependência e atenuar a abstinência por qualquer distúrbio de dependência. Portanto, o tratamento com ibudilast é indicado não penas para síndromes associadas com opiáceos, mas também para outras classes de drogas, como psico-estimulantes (cocaína, anfetamina, metanfetamina), canabinóides, e álcool. além disso, o tratamento com ibudilast também pode ser estendido para atenuar potencialmente as "dependências comportamentais"

como apostas e consumo exagerado de alimentos.

Embora as modalidades preferidas da atual invenção tenham sido descritas em algum detalhe, entende-se que variações óbvias podem ser feitas sem fugir do espírito e escopo da invenção como aqui reivindicado.

REIVINDICAÇÕES

1. Método para a supressão da liberação de dopamina no núcleo acumbens de um indivíduo **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração ao indivíduo de uma quantidade eficaz de ibudilast.

2. Método, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo tem uma dependência.

3. Método para o tratamento de uma dependência **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração a um indivíduo em necessidade desse de uma quantidade terapeuticamente eficaz de ibudilast.

4. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que a dependência é uma dependência química.

5. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que a dependência química é selecionada do grupo que consiste em uma dependência a opiáceos, uma dependência à cocaína, uma dependência à anfetamina, uma dependência à metanfetamina, uma dependência a canabinóide, uma dependência a álcool e uma dependência à nicotina.

6. Método, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizado** pelo fato de que a dependência química é uma dependência a um ou mais opiáceos selecionados do grupo que consiste em morfina, metadona e fentanil.

7. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que a dependência é uma dependência comportamental.

8. Método, de acordo com a reivindicação 7,

caracterizado pelo fato de que a dependência comportamental é selecionada do grupo que consiste em compulsão por comida, alcoolismo, tabagismo, compulsão de consumo, compulsão por jogo, compulsão por sexo e compulsão pelo uso do computador.

9. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina o comportamento relacionado à dependência do indivíduo.

10. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina anseios associados à dependência a um ou mais medicamentos no indivíduo.

11. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina a tolerância a um ou mais medicamentos no indivíduo.

12. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina sinais de compulsão por dependência química ou comportamental no indivíduo.

13. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina sintomas de síndrome de abstinência no indivíduo.

14. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina perda de peso no indivíduo.

15. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina a ativação de células da glia no indivíduo.

16. Método, de acordo com a reivindicação 15, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina

a ativação de astrócitos ou microglia no indivíduo.

17. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui CD11b no cérebro do indivíduo.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui CD11b nas regiões cinzentas periaquedutais ou do núcleo do trigêmeo do cérebro do indivíduo.

19. Método, de acordo com a reivindicação 17, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina aumentos induzidos por medicamento na expressão de interleucina-1 no indivíduo.

20. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

21. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado por via sistêmica.

22. Método, de acordo com a reivindicação 21, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado por via intravenosa, subcutânea, oral, intranasal ou sublingual.

23. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado centralmente.

24. Método, de acordo com a reivindicação 23, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado por via intratecal.

25. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** pelo fato de que múltiplas doses terapeuticamente eficazes de ibudilast são administradas ao

indivíduo.

26. Método, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast é administrado de acordo com um regime de dosagem diária.

27. Método, de acordo com a reivindicação 26, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast é administrado duas vezes ao dia.

28. Método, de acordo com a reivindicação 25, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast é administrado intermitentemente.

29. Método, de acordo com a reivindicação 2 ou 3, **caracterizado** por também compreender a administração de um ou mais outros agentes que não ibudilast para o tratamento de uma dependência.

30. Método, de acordo com a reivindicação 29, **caracterizado** pelo fato de que um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em analgésicos, NSAIDs, antieméticos, antidiarreicos, alfa-2-antagonistas, benzodiazepínicos, anticonvulsivantes, antidepressivos e terápicos para insônia.

31. Método, de acordo com a reivindicação 30, **caracterizado** pelo fato de que um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em buprenorfina, naloxona, metadona, acetato de levometadil, L-alfa acetilmetadol (LAAM), hidroxizina, difenoxilato, atropina, clordiazepóxido, carbamazepina, mianserin, benzodiazepina, fenoziazina, dissulfiram, acamprosato, topiramato, ondansetron, sertralina, bupropiona, amantadina, amilorida, isradipina, tiagabina, baclofen, propranolol, desipramina, carbamazepina, valproata, lamotrigina, doxepin, fluoxetina,

imipramina, moclobemida, nortriptilina, paroxetina, sertralina, triptofano, venlafaxina, trazodona, quetiapina, zolpidem, zopiclona, zaleplon, gabapentina, naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina e diazepam.

32. Método para o tratamento de uma síndrome abstinência de opióide em um mamífero **caracterizado** pelo fato de que compreende a administração de uma ou mais doses de ibudilast.

33. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que o indivíduo é um ser humano.

34. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que a síndrome de abstinência de opióide é causada por redução ou cessação da administração de um opióide no indivíduo.

35. Método, de acordo com a reivindicação 34, **caracterizado** pelo fato de que o opióide é selecionado do grupo que consiste em morfina, metadona e fentanil.

36. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que o opióide é morfina.

37. Método, de acordo com a reivindicação 35, **caracterizado** pelo fato de que o opióide é fentanil.

38. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que a síndrome de abstinência de opióide é causada pela administração de um antagonista de opióide.

39. Método, de acordo com a reivindicação 38, **caracterizado** pelo fato de que o antagonista de opióide é naloxona ou naltrexona.

40. Método, de acordo com a reivindicação 32,

caracterizado pelo fato de que o ibudilast é administrado por via sistêmica.

41. Método, de acordo com a reivindicação 40, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado por via intravenosa, subcutânea, oral, intranasal ou sublingual.

42. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado centralmente.

43. Método, de acordo com a reivindicação 42, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado por via intratecal.

44. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que múltiplas e doses terapeuticamente eficazes de ibudilast são administradas ao indivíduo.

45. Método, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado** pelo fato de que o ibudilast é administrado de acordo com um regime de dosagem diária.

46. Método, de acordo com a reivindicação 45, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast é administrado duas vezes ao dia.

47. Método, de acordo com a reivindicação 44, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast é administrado intermitentemente.

48. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** por também compreender a administração de um ou mais agentes outros que não ibudilast para o tratamento de abstinência de opióide.

49. Método, de acordo com a reivindicação 48,

caracterizado pelo fato de que um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em analgésicos, NSAIDs, antieméticos, antidiarreicos, alfa-2-antagonistas e benzodiazepínicos.

50. Método, de acordo com a reivindicação 49, **caracterizado** pelo fato de que um ou mais agentes são selecionados do grupo que consiste em naltrexona, paracetamol, metoclopramida, loperamida, clonidina, lofexidina e diazepam.

51. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina a perda de peso no indivíduo.

52. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina a ativação de células da glia no indivíduo.

53. Método, de acordo com a reivindicação 52, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina ativação de astrócitos ou microglia no indivíduo.

54. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui CD11b no cérebro do indivíduo.

55. Método, de acordo com a reivindicação 54, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui CD11b nas regiões cinzenta periaquedutal ou do núcleo do trigêmeo do cérebro do indivíduo.

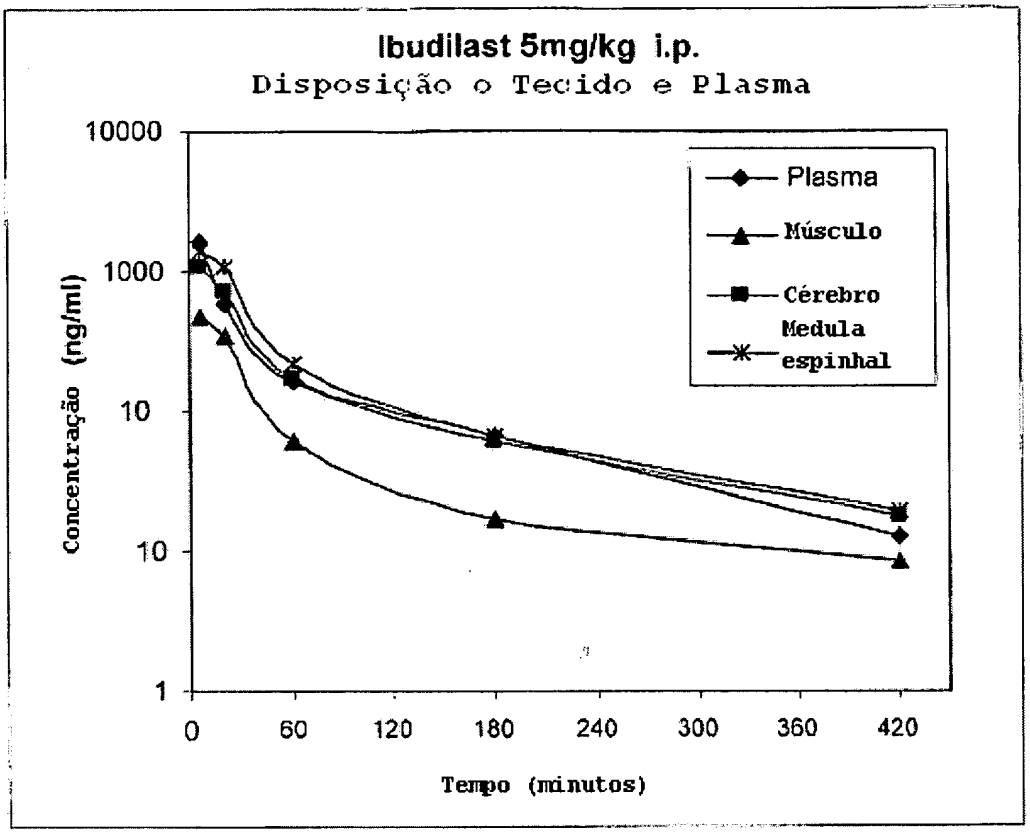
56. Método, de acordo com a reivindicação 32, **caracterizado** pelo fato de que ibudilast diminui ou elimina diminuições induzidas por medicamento na expressão de interleucina-1 no indivíduo.

57. Uso de ibudilast **caracterizado** pelo fato de ser

para a fabricação de um medicamento para a supressão da liberação de dopamina no núcleo acumbens de um indivíduo.

58. Uso de ibudilast **caracterizado** pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma dependência.

59. Uso de ibudilast **caracterizado** pelo fato de ser para a fabricação de um medicamento para o tratamento de uma síndrome de abstinência de opióide.



PK Parameters	Plasma	Músculo	Cérebro	Medula espinhal
Cmax (ng/ml)	1645	472	1070	1397
t1/2 (min)	100	139	114	106
AUCinf (ng*min/ml)	60,429	24,511	58,881	76,529
AUC % Plasma		40.6	97	~126

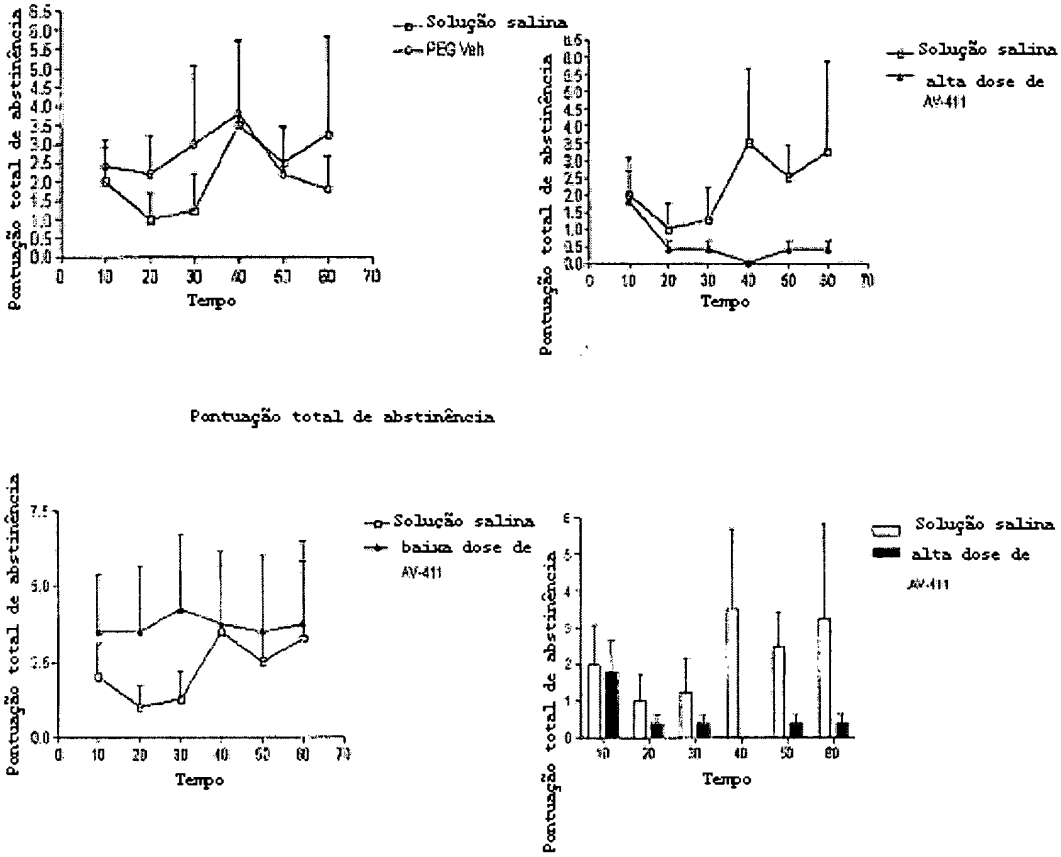
FIGURA 1

A

B

Seletivo

postura anormal
limpeza
esploração
pular e
elevação



C

D

FIGURA 2

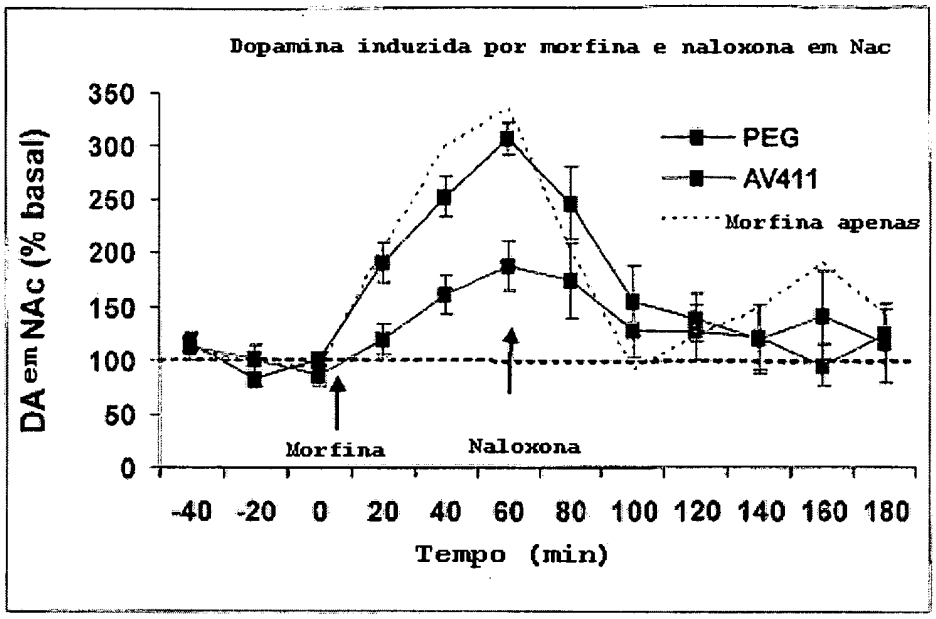

Dopamina induzida por morfina e naloxona em Nac
DA em NAc (% basal)
350
300
250
200
150
100
50
0
PEG
AV411
Morfina apenas
Morfina
Naloxona
-40 -20 0 20 40 60 80 100 120 140 160 180
Tempo (min)

FIGURA 3

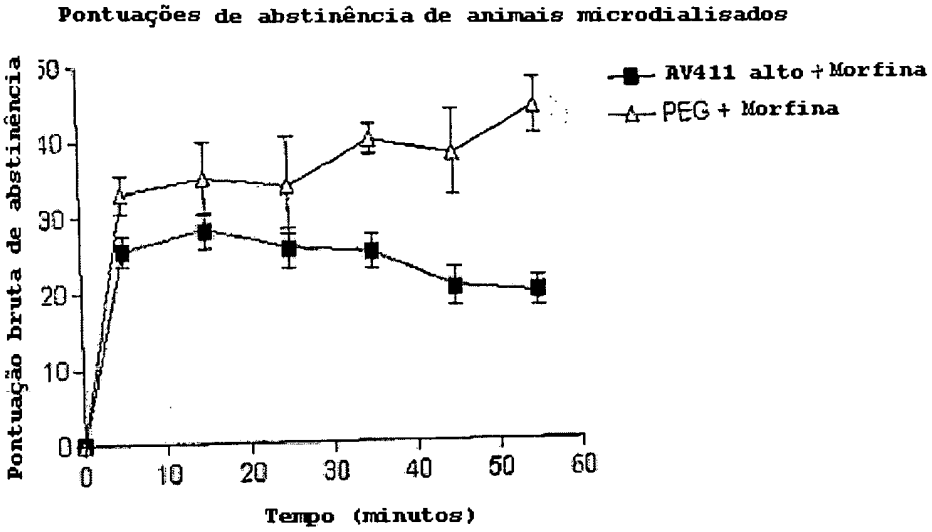

Pontuações de abstinência de animais microdialisados
Pontuação bruta de abstinência
50
40
30
20
10
0
0
10
20
30
40
50
60
Tempo (minutos)
AV411 alto + Morfina
PEG + Morfina

FIGURA 4

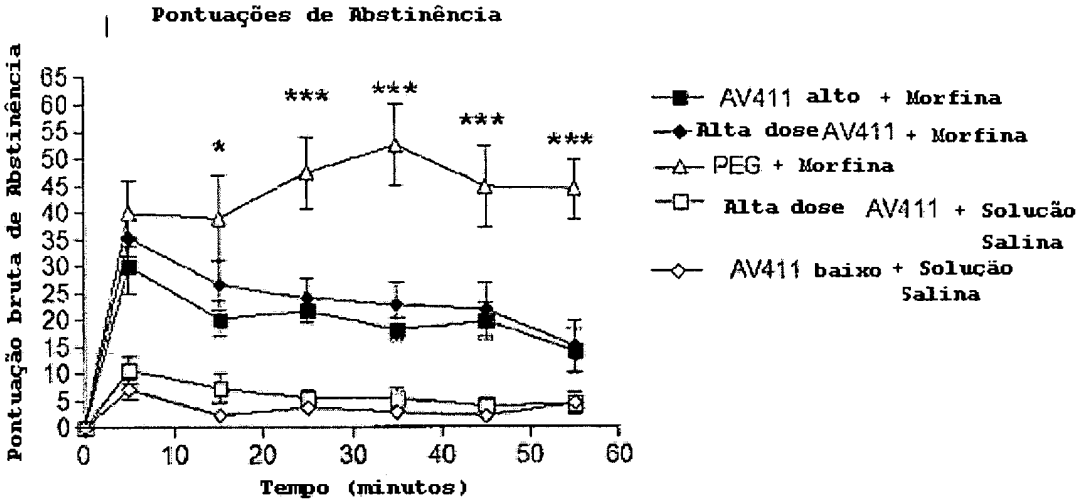

Pontuações de Abstinência
Pontuação bruta de Abstinência
65
60
55
50
45
40
35
30
25
20
15
10
5
0
0
10
20
30
40
50
60
Tempo (minutos)
*
***
***
***
AV411 alto + Morfina
Alta dose AV411 + Morfina
PEG + Morfina
Alta dose AV411 + Solucão Salina
AV411 baixo + Solução Salina

FIGURA 5



FIGURA 6

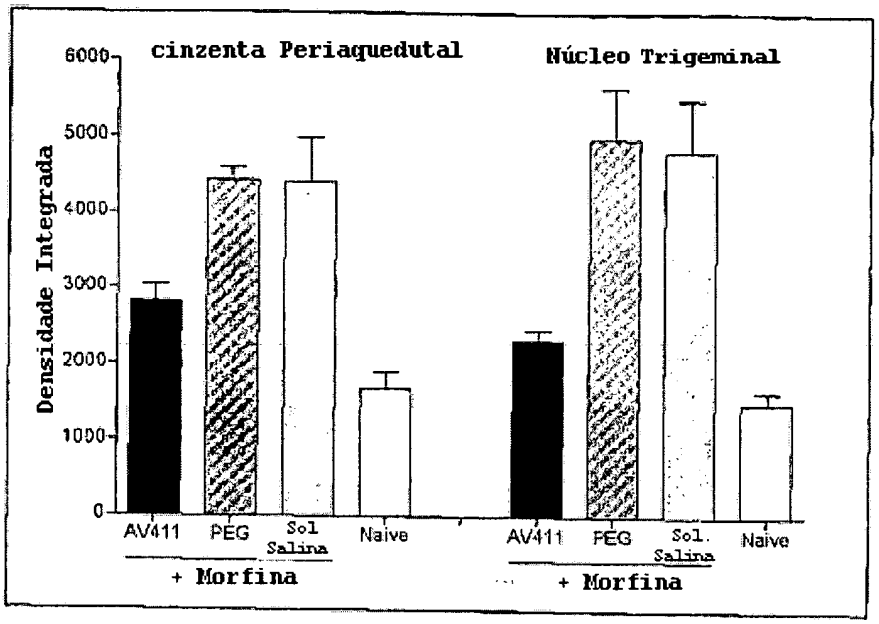

cinzenta Periaquedutal
Núcleo Trigeminal
Densidade Integrada
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
AV411
PEG
Sol Salina
Naive
+ Morfina
AV411
PEG
Sol. Salina
Naive
+ Morfina

FIGURA 7

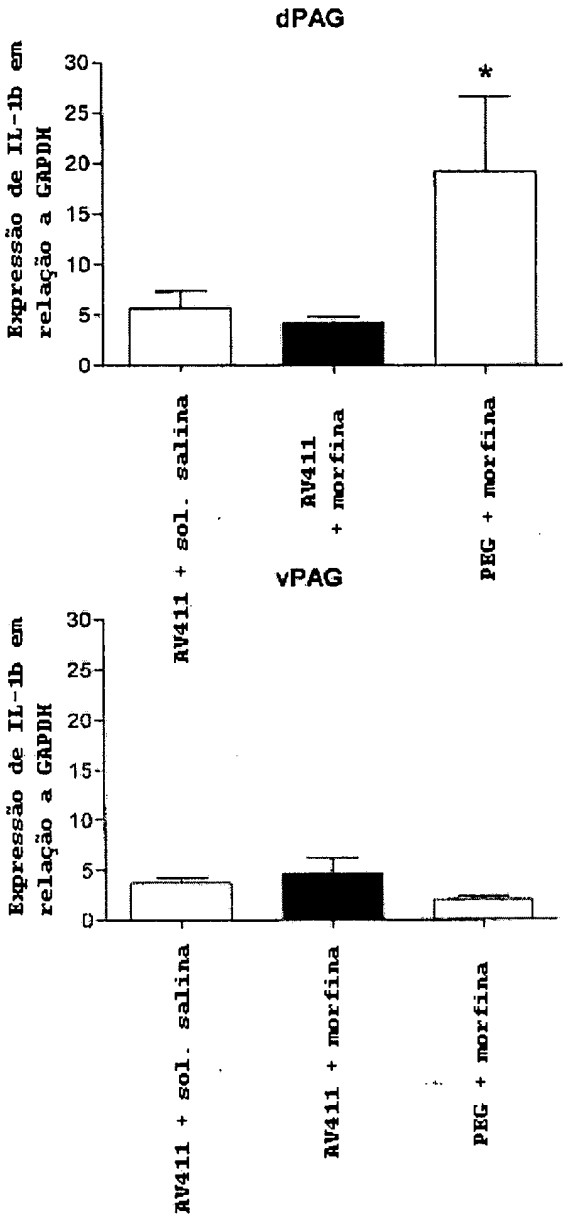

dPAG
Expressão de IL-1b em relação a GAPDH
30
25
20
15
10
5
0
*
AV411 + sol. salina
AV411 + morfina
PEG + morfina
vPAG
Expressão de IL-1b em relação a GAPDH
30
25
20
15
10
5
0
AV411 + sol. salina
AV411 + morfina
PEG + morfina

FIGURA 8

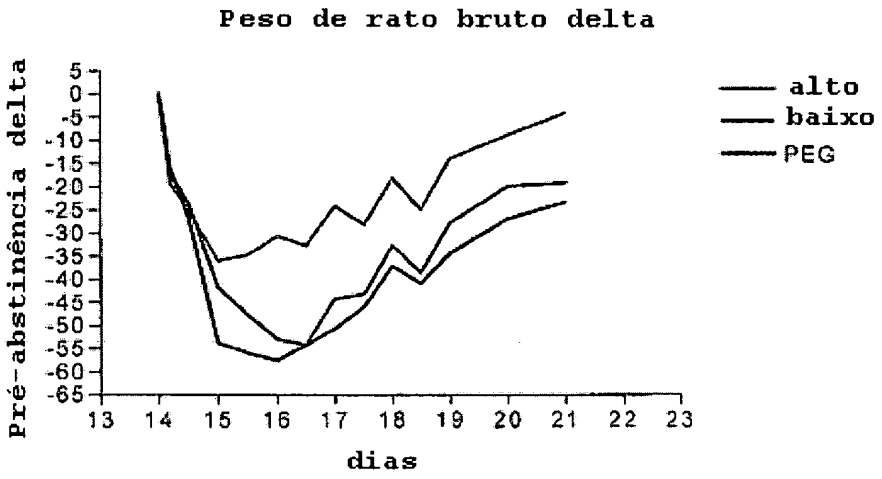

Peso de rato bruto delta
Pré-abstinência delta
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-30
-35
-40
-45
-50
-55
-60
-65
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
dias
alto
baixo
PEG

FIGURA 9

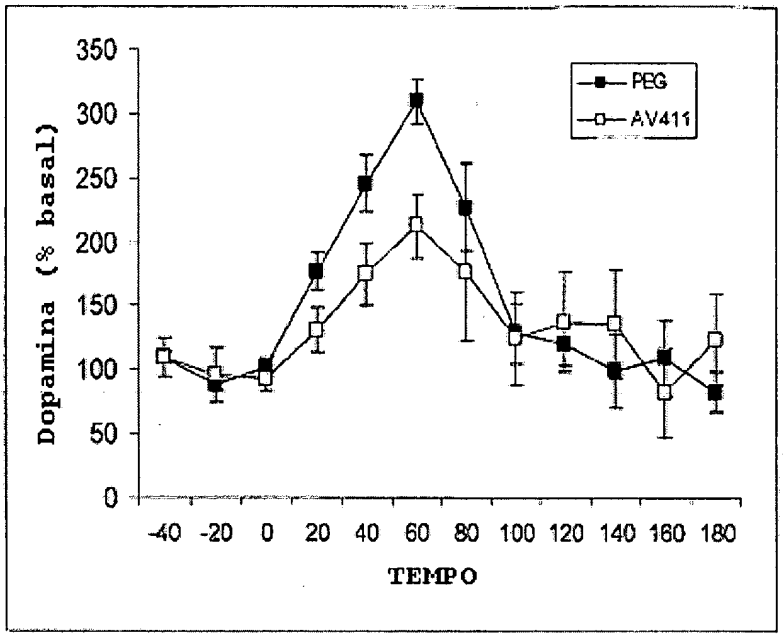

Dopamina (% basal)
350
300
250
200
150
100
50
0
-40 -20 0 20 40 60 80 100 120 140 160 180
TEMPO
PBG
AV411

FIGURA 10

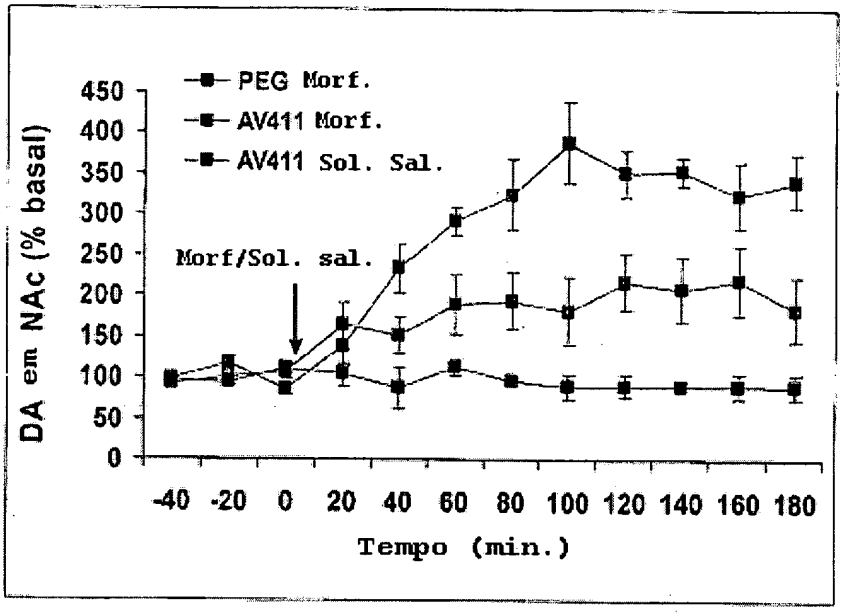

PEG Morf.
AV411 Morf.
AV411 Sol. Sal.
Morf/Sol. sal.
DA em NAc (% basal)
450
400
350
300
250
200
150
100
50
0
-40 -20 0 20 40 60 80 100 120 140 160 180
Tempo (min.)

FIGURA 11

PI0616344-0

MÉTODO PARA O TRATAMENTO DE DEPENDÊNCIA QUÍMICA E COMPORTAMENTAL

A presente invenção é direcionada ao uso de ibudilast para o tratamento de dependências, incluindo dependências química e comportamental. Em particular, ibudilast é usado para diminuir a compensação mediada por dopamina associada com dependências e para tratar síndromes de abstinência após a interrupção da dependência química ou comportamental.