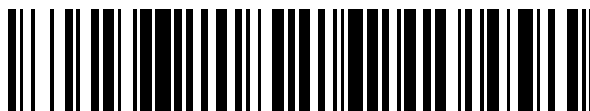


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 847 293**

51 Int. Cl.:

A61K 38/16 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **10.06.2010 PCT/US2010/038200**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.12.2010 WO10144721**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.06.2010 E 10786859 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.11.2020 EP 2440230**

54 Título: **Regímenes de tratamiento para el tratamiento de enfermedades neurológicas**

30 Prioridad:

10.06.2009 US 185989 P

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

02.08.2021

73 Titular/es:

**NONO INC. (100.0%)
479A Wellington St. W
Toronto, ON M5V 1E7, CA**

72 Inventor/es:

**TYMIANSKI, MICHAEL y
GARMAN, JONATHAN DAVID**

74 Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 847 293 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Regímenes de tratamiento para el tratamiento de enfermedades neurológicas

5 Antecedentes de la invención

Los primeros trabajos sobre excitotoxicidad sugirieron que el infarto cerebrovascular y el neurotrauma podrían tratarse mediante el uso de fármacos que bloquean los receptores de glutamato (Albers, Archives in Neurology 49:418-420 (1992); Albers Ann Neurol 25:398-403 (1989)). Aunque las primeras pruebas *in vitro* y en modelos animales fueron prometedoras, desafortunadamente, todos los ensayos clínicos de ictus de antagonistas del glutamato hasta la fecha no mostraron ningún beneficio, e incluso efectos secundarios tóxicos (Davis y otros, Lancet 349: 32 (1997); Morris y otros, J Neurosurg 91:737-743 (1999); Davis y otros, Stroke 31:347-354 (2000); Ikonomidou y otros, Proc Natl Acad Sci USA 97:12885-12890 (2000); Lees y otros, Lancet 355:1949-1954 (2000)). Una explicación probable es que las consecuencias negativas de la administración de agentes que inhiben la neurotransmisión excitadora en el CNS superaron su utilidad como neuroprotectores (Ikonomidou y Turski, Lancet Neurology 383-386 (2002)). La señalización glutamatérgica es necesaria para la función del CNS y, por lo tanto, el bloqueo de la neurotransmisión excitadora esencial tiene consecuencias negativas (Ikonomidou, Biochem. Pharmacol. 62:401-405 (2001)). Por lo tanto, se requiere un enfoque más sofisticado para tratar la muerte neuronal para evitar las consecuencias negativas del bloqueo de los receptores de glutamato.

Uno de los presentes inventores informó que la proteína postsináptica de densidad-95 (PSD-95) acopla los NMDAR a vías que median la excitotoxicidad y el daño cerebral isquémico (Aarts y otros, Science 298, 846-850 (2002)). Este acoplamiento se interrumpió al transducir neuronas con péptidos que se unen a dominios modulares en ambos lados del complejo de interacción PSD-95/NMDAR. Este tratamiento atenuó la señalización de NMDAR aguas abajo sin bloquear la actividad de NMDAR, protegió a las neuronas corticales cultivadas de los ataques excitotóxicos y redujo el volumen de infarto cerebral en ratas sometidas a isquemia cerebral focal transitoria.

El documento núm. WO 2008/008348 describe métodos para tratar el infarto cerebrovascular y afecciones relacionadas exacerbadas por fiebre y/o hiperglucemia mediante la administración de péptidos o peptidomiméticos que inhiben la unión de NMDAR 2B a PSD-95. El documento núm. WO 2008/109010 describe un péptido quimérico que comprende un péptido activo que inhibe la unión de PSD-95 al receptor de NMDA y un péptido de internalización que promueve la captación del péptido quimérico en las células y tiene una capacidad reducida para unirse a un canal de calcio de tipo N en relación con el péptido tat YGRKKRRQRRR. Sun y otros, Stroke, 2007, 2544-2553 informan sobre el uso de inhibidores de PSD-95 para reducir el daño cerebral isquémico en ratas. Cui y otros, J. Neurosci., 2007 (27:37), 9901-9915 informan que Tat-NR2B9c actúa mediante la inhibición de las interacciones NMDAR2B con PSD-95 y nNOS. Soriano y otros, J. Neurosci., 2008 (28:45), 10696-10710 informa que Tat-NR2B9c reduce la muerte neuronal excitotóxica y el daño isquémico mediado por p38. Martel y otros, Channels (Austin), 2009 (3:1), 12-15 informan que Tat-NR2B9 puede inhibir los eventos de señalización a favor de la muerte aguas abajo de NMDAR al tiempo que evita la función sináptica y la señalización.

40 Resumen de la invención

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un agente para inhibir la unión de PSD-95 a NMDAR 2B para su uso en la inhibición del daño isquémico de la neurocirugía, en donde la neurocirugía es una angiografía de diagnóstico del cerebro o una cirugía endovascular para tratar un aneurisma como se define en la reivindicación 1.

La descripción proporciona métodos para tratar o efectuar la profilaxis de una enfermedad mediada por excitotoxicidad, que comprende administrar a un sujeto que tiene o está en riesgo de padecer la enfermedad un agente farmacológico que inhibe la unión de PSD-95 a NMDAR 2B y/o de PSD-95 a nNOS, donde cuando el agente es un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSTESDV (SEQ ID NO:6), la dosis es 2-3 mg/kg, y si el agente es diferente al péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSSIESDV, la dosis entrega la concentración efectiva equivalente del agente a 2-3 mg/kg del péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSSIESDV. En algunos métodos, el agente es el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSSIESDV y la dosis es de 2,6 mg/kg. En algunos métodos, la dosis se administra una vez por episodio de la enfermedad. En algunos métodos, la dosis se administra sin la coadministración de un agente antiinflamatorio.

La descripción proporciona métodos para tratar o efectuar la profilaxis de una enfermedad mediada por excitotoxicidad, que comprende administrar a un sujeto que tiene o está en riesgo de padecer la enfermedad un agente farmacológico que inhibe la unión de PSD-95 a NMDAR 2B y/o PSD-95 a nNOS, en donde el agente se enlaza a un péptido de internalización y el agente se administra mediante infusión intravenosa durante un período de 5-15 minutos. En algunos métodos, el agente enlazado al péptido de internacionalización es el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRKLSSIESDV (SEQ ID NO:6) y el período es de 5 minutos. En algunos métodos, la dosis del agente farmacológico es superior a 1 mg/kg. En algunos métodos, la dosis del agente farmacológico es 2-3 mg/kg. En algunos métodos, la dosis del agente farmacológico es de 2,6 mg/kg. En algunos métodos, la dosis es de hasta 50 mg/kg, siempre que si la dosis es superior a 3 mg/kg la dosis se coadministra con

un antiinflamatorio. En algunos métodos, se administra sin coadministración de un agente antiinflamatorio. En algunos métodos, el sujeto sufre un infarto cerebrovascular. En algunos métodos, el sujeto se somete a cirugía, opcionalmente, cirugía endovascular para tratar un aneurisma.

5 La descripción proporciona métodos para inhibir el daño isquémico de neurocirugía o cirugía endovascular (ya sea en el CNS o no), que comprenden administrar un régimen efectivo de un agente que inhibe la unión de PSD-95 a NMDAR 2B a un paciente sometido a neurocirugía. En algunos métodos, la neurocirugía es una angiografía de diagnóstico del cerebro. En algunos métodos, la neurocirugía es una cirugía endovascular para tratar un aneurisma. En algunos métodos, el agente se administra antes de la cirugía endovascular. En algunos métodos, el agente se
10 administra dentro de 1 hora después de completar la cirugía endovascular. En algunos métodos, la cirugía endovascular comprende la inserción de una espiral en el aneurisma. En algunos métodos, la cirugía endovascular comprende insertar un stent en el vaso sujeto al aneurisma. En algunos métodos, la cirugía endovascular comprende insertar un microcatéter.

15 La descripción proporciona métodos para realizar un ensayo clínico sobre un agente farmacológico que comprende administrar el agente farmacológico a una población de pacientes sometidos a cirugía endovascular por un aneurisma cerebral, y comparar la frecuencia de un efecto dañino de la cirugía en los pacientes en comparación con los pacientes control sometidos a la cirugía endovascular sin el agente farmacológico, para determinar si el agente farmacológico reduce el efecto dañino. En algunos métodos, el efecto dañino se evalúa por el número y/o el tamaño de los infartos cerebrales. Algunos métodos comprenden, además, probar el agente farmacológico en un modelo animal de accidente cerebrovascular. Algunos métodos comprenden, además, probar el agente farmacológico en un paciente humano que sufre un accidente cerebrovascular. Algunos métodos comprenden, además, marcar el agente farmacológico para el tratamiento del accidente cerebrovascular. En algunos métodos, el agente farmacológico
20 inhibe la unión de PSD95 a NMDAR 2B y/o PSD-95 a nNOS.

25 La descripción proporciona métodos para probar un agente farmacológico. Dichos métodos implican: (a) insertar partículas en un vaso sanguíneo cerebral de un primate; (b) administrar el agente farmacológico al primate; y (c) comparar un efecto dañino en el primate en comparación con un primate de control no tratado con el compuesto. En algunos métodos, el efecto dañino se evalúa por el número y/o el tamaño de los infartos. En algunos métodos, los infartos se determinan mediante resonancia magnética o tomografía computarizada. En algunos métodos, el efecto dañino se evalúa mediante un síntoma de comportamiento del primate en comparación con el primate de control. Algunos métodos comprenden, además, la repetición de las etapas (a)-(c) en el mismo primate después de un período de recuperación, siempre que el agente probado en las etapas repetidas (a)-(c) pueda o no ser el mismo que cuando las etapas (a)-(c) se preformaron previamente. Algunos métodos comprenden, además, la repetición de las etapas (a)-(c) excepto que el primate de control recibe el agente y el animal que recibe previamente el agente es el animal de control. En algunos métodos, el agente inhibe la unión de PSD-95 a NMDAR 2B y/o PSD-95 a nNOS. Algunos métodos comprenden, además, administrar el agente a un sujeto humano con accidente cerebrovascular. Algunos métodos comprenden, además, administrar el agente a un sujeto humano que se somete a cirugía endovascular por un aneurisma. En algunos métodos, el agente se administra después de insertar partículas en el
30 vaso sanguíneo cerebral. En algunos métodos, el agente se administra antes de insertar partículas en el vaso sanguíneo cerebral. En algunos métodos, las partículas son esferas de poliestireno de 100 micrones. En algunos métodos, se administran 20 esferas al primate. En algunos métodos, el primate es un macaco.

35 La descripción proporciona una composición liofilizada que comprende el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO:6) liofilizado a partir de una solución del péptido en solución salina normal preparada en condiciones GMP.

40 Se describe un método para almacenar una composición farmacéutica que comprende almacenar una composición farmacéutica que comprende un péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO:6) a una concentración de 10-30 mg/ml en solución salina normal en condiciones GMP por debajo de 0 °C por un período de al menos dos años. Opcionalmente la concentración es de 18-20 mg/ml.

Breve descripción de las figuras

55 La Figura 1 muestra una exploración MRI ponderada por difusión de infartos 24 horas después de la inyección de esferas en un animal de control en comparación con un ser humano que ha recibido cirugía endovascular para insertar una espiral para reparar un aneurisma. La parte superior muestra defectos de difusión 48 horas después del enrollamiento del aneurisma en una mujer humana de 44 años. La parte inferior muestra defectos de difusión 24 horas después de la inyección de microesferas de poliestireno de 20 x 100 um en un macaco cynomolgus macho.

60 La Figura 2 compara el número y volumen de infartos visibles por MRI en animales tratados y de control.

La Figura 3 muestra datos similares a los de la Figura 2 para infartos en la corteza.

65 La Figura 4 muestra los cambios en la presión arterial después de la administración de Tat-NR2B9c a 50 mg/kg y un tiempo de infusión de 3 min o 60 min.

La Figura 5 muestra que el tamaño del infarto medido 24 horas después del tratamiento se redujo significativamente con respecto al placebo de solución salina con la infusión de 5 minutos, pero no con la infusión de una hora de Tat-NR2B9c a 7,6 mg/kg (columna más a la derecha).

5 Definiciones

Un "péptido quimérico" significa un péptido que tiene péptidos de dos componentes no asociados naturalmente entre sí, pero unidos entre sí como una proteína de fusión o por enlace químico.

10 Una proteína o polipéptido de "fusión" se refiere a un polipéptido compuesto, es decir, una única secuencia de aminoácidos contigua, formada por secuencias de dos (o más) polipéptidos heterólogos distintos que normalmente no se fusionan en una única secuencia polipeptídica.

15 El término "dominio PDZ" se refiere a un dominio de proteína modular de aproximadamente 90 aminoácidos, caracterizado por una identidad de secuencia significativa (por ejemplo, al menos 60 %) con la proteína sináptica cerebral PSD-95, la proteína de unión de septo *Drosophila* Discs-Large (DLG), y la proteína de unión epitelial ajustada ZO1 (ZO1). Los dominios PDZ también se conocen como repeticiones de homología Discs-Large ("DHR") y repeticiones GLGF. Los dominios PDZ generalmente parecen mantener una secuencia central de consenso (Doyle, DA, 1996, Cell 85:1067-76). Ejemplos de proteínas que contienen el dominio PDZ y secuencias del dominio PDZ
20 descritas en la solicitud de los Estados Unidos núm. 10/714,537 (publicada como documento núm. US20060148711 A1).

25 La expresión "proteína PL" o "proteína ligando PDZ" se refiere a una proteína natural que forma un complejo molecular con un dominio PDZ, o una proteína cuyo término carboxi, cuando se expresa por separado de la proteína de longitud completa (por ejemplo, como un fragmento peptídico de 3-25 residuos, por ejemplo 3, 4, 5, 8, 9, 10, 12, 14 o 16 residuos), forma tal complejo molecular. El complejo molecular puede observarse *in vitro* mediante el uso del "ensayo A" o el "ensayo G" descritos, por ejemplo, en la solicitud de los Estados Unidos núm. 10/714,537 (ver anteriormente) o *in vivo*.

30 La expresión "receptor de NMDA", o "NMDAR", se refiere a una proteína asociada a la membrana que se sabe que interactúa con NMDA, incluidas las diversas formas de subunidades que se describen a continuación. Dichos receptores pueden ser humanos o no humanos (por ejemplo, ratón, rata, conejo, mono).

35 Un "motivo PL" se refiere a la secuencia de aminoácidos del extremo C-terminal de una proteína PL (por ejemplo, los 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 14, 16, 20 o 25 residuos contiguos al extremo C-terminal) ("secuencia PL del C-terminal") o en una secuencia interna conocida por unirse a un dominio PDZ ("secuencia PL interna").

40 Un "péptido PL" es un péptido que comprende o consiste o se basa de otra manera en un motivo PL que se une específicamente a un dominio PDZ.

45 Los términos "aislado" o "purificado" significan que la especie objeto (por ejemplo, un péptido) se purificó a partir de contaminantes que están presentes en una muestra, tal como una muestra obtenida de fuentes naturales que contienen la especie objeto. Si una especie objeto está aislada o purificada, ésta es la especie macromolecular predominante (por ejemplo, polipéptido) presente en una muestra (es decir, en una base molar es más abundante que cualquier otra especie individual en la composición) y, preferiblemente, la especie objeto comprende al menos
50 aproximadamente el 50 por ciento (sobre una base molar) de todas las especies macromoleculares presentes. En general, una composición aislada, purificada o sustancialmente pura comprende más del 80 al 90 por ciento de todas las especies macromoleculares presentes en una composición. Con la mayor preferencia, la especie objeto se purifica a una homogeneidad esencial (es decir, las especies contaminantes no pueden detectarse en la composición mediante métodos de detección convencionales), en donde la composición consiste esencialmente en una sola especie macromolecular. El término aislado o purificado no excluye necesariamente la presencia de otros componentes destinados a actuar en combinación con una especie aislada. Por ejemplo, un péptido de internalización puede describirse como aislado a pesar de que se enlace a un péptido.

55 Un "peptidomimético" se refiere a un compuesto químico sintético que tiene sustancialmente las mismas características estructurales y/o funcionales de un péptido que consiste en aminoácidos naturales. El peptidomimético puede contener análogos de aminoácidos totalmente naturales, no naturales, o puede ser una molécula química de aminoácidos peptídicos en parte naturales y análogos de aminoácidos en parte no naturales. El peptidomimético también puede incorporar cualquier cantidad de sustituciones conservativas de aminoácidos
60 naturales siempre que dichas sustituciones no alteren sustancialmente la estructura mimética y/o la actividad inhibitoria o de unión. Las composiciones miméticas de polipéptidos pueden contener cualquier combinación de componentes estructurales no naturales, que son típicamente de tres grupos estructurales: a) grupos de enlace de residuos distintos de los enlaces de enlace amida natural ("enlace peptídico"); b) residuos no naturales en lugar de residuos de aminoácidos naturales; o c) residuos que inducen mimetismo estructural secundario, es decir, para
65 inducir o estabilizar una estructura secundaria, por ejemplo, un giro beta, giro gamma, lámina beta, conformación de

hélice alfa, y similares. En un peptidomimético de un péptido quimérico que comprende un péptido activo y un péptido de internalización, el motivo activo o el motivo de internalización o ambos pueden ser un peptidomimético.

La expresión "unión específica" se refiere a la unión entre dos moléculas, por ejemplo, un ligando y un receptor, caracterizada por la capacidad de una molécula (ligando) para asociarse con otra molécula específica (receptor) incluso en presencia de muchas otras moléculas diversas, es decir, que muestra la unión preferencial de una molécula por otra en una mezcla heterogénea de moléculas. La unión específica de un ligando a un receptor también se evidencia por la unión reducida de un ligando marcado de manera detectable al receptor en presencia de un exceso de ligando no marcado (es decir, un ensayo de competición de unión).

La excitotoxicidad es el proceso patológico por el cual las neuronas se dañan y mueren por la sobreactivación de los receptores para el neurotransmisor excitador glutamato, tal como los receptores NMDA, por ejemplo, NMDAR 2B.

El término "sujeto" o "paciente" incluye seres humanos y animales veterinarios, tales como mamíferos.

El término "agente" incluye cualquier compuesto que incluya compuestos con o sin actividad farmacéutica, compuestos naturales, compuestos sintéticos, moléculas pequeñas, péptidos y peptidomiméticos.

La expresión "agente farmacológico" significa un agente que tiene una actividad farmacológica. Los agentes farmacológicos incluyen compuestos que son fármacos conocidos, compuestos para los cuales se identificó una actividad farmacológica pero que se someten a una evaluación terapéutica adicional en modelos animales o ensayos clínicos. Un agente quimérico comprende un agente farmacológico enlazado a un péptido de internalización. Puede describirse que un agente tiene actividad farmacológica si muestra una actividad en un sistema de detección que indica que el agente activo es o puede ser útil en la profilaxis o el tratamiento de una enfermedad. El sistema de selección puede ser *in vitro*, celular, animal o humano. Puede describirse que los agentes tienen actividad farmacológica a pesar de que se requieren pruebas adicionales para establecer la utilidad profiláctica o terapéutica real en el tratamiento de una enfermedad.

Un péptido tat significa un péptido que comprende o consiste en GRKKRRQRRR (SEQ ID NO:1), en el que no se eliminan, sustituyen o insertan más de 5 residuos dentro de la secuencia, que conserva la capacidad de facilitar la captación de un péptido enlazado u otro agente en las células. Preferiblemente, cualquier cambio de aminoácido son sustituciones conservativas. Preferiblemente, cualquier sustitución, eliminación o inserción interna en el agregado deja el péptido con una carga catiónica neta, preferiblemente similar a la de la secuencia anterior. Los aminoácidos de un péptido tat pueden derivarse con biotina o una molécula similar para reducir una respuesta inflamatoria.

La coadministración de un agente farmacológico enlazado a un péptido de internalización y un agente antiinflamatorio significa que los dos agentes se administran con una proximidad suficiente en el tiempo para que el agente antiinflamatorio pueda inhibir una respuesta inflamatoria inducible por el péptido de internacionalización.

Estadísticamente significativo se refiere a un valor de p que es $<0,05$, preferiblemente $<0,01$ y con la mayor preferencia $<0,001$.

Un episodio de una enfermedad significa un período en el que los signos y/o síntomas de la enfermedad están presentes intercalados por flanqueados por períodos más largos en los que los signos y/o síntomas están ausentes o se presentan en menor medida.

Descripción detallada de la invención

I. General

Se describen modelos animales y ensayos clínicos para evaluar agentes para su uso potencial en el tratamiento o la realización de profilaxis para infarto cerebrovascular y otras enfermedades neurológicas, particularmente aquellas mediadas al menos en parte por excitotoxicidad. También se describen los regímenes de infusión y dosificación preferidos y las composiciones farmacéuticas para la aplicación clínica de tales agentes.

II. Agentes para el tratamiento de enfermedades

Aunque puede seleccionarse cualquier agente para determinar su eficacia en los modelos animales o ensayos clínicos que se describen a continuación, incluidos los agentes que fallaron en ensayos clínicos previos para el accidente cerebrovascular, una clase preferida de agentes inhibe las interacciones entre PSD-95 y uno o más NMDAR. Dichos agentes son útiles para reducir efectos dañinos del accidente cerebrovascular y otras afecciones neurológicas mediadas al menos en parte por la excitotoxicidad de NMDAR. Dichos agentes incluyen péptidos que tienen una secuencia de aminoácidos que incluye o se basa en el motivo PL de un receptor de NMDA o dominio PDZ de PSD95. Dichos péptidos también pueden inhibir las interacciones entre PSD-95 y nNOS y otros receptores de glutamato (por ejemplo, receptores de kainito o receptores de AMPA), tales como KV1-4 y GluR6. Los péptidos preferidos inhiben la interacción entre los dominios PDZ 1 y 2 de la proteína de la densidad postsináptica 95 (PSD-

95) (secuencia de aminoácidos humana proporcionada por Stathakism, Genomics 44(1):71-82 (1997)) y la secuencia C terminal PL de una o más subunidades del receptor de NMDA 2, incluida la subunidad NR2B del receptor neuronal de N-metil-D-aspartato (Mandich y otros, Genomics 22, 216-8 (1994)). NMDAR2B tiene ID del GenBank 4099612, 20 aminoácidos C terminales FNGSSNGHVYEKLSSIESDV (SEQ ID NO:11) y un motivo PL ESDV (SEQ ID NO:12). Los péptidos preferidos inhiben las formas humanas de PSD-95 y los receptores NMDAR humanos. Sin embargo, la inhibición también puede mostrarse a partir de variantes de especies de las proteínas. A continuación, se muestra una lista de los receptores de NMDA y de glutamato que pueden usarse:

Tabla 1: Receptores de NMDA con secuencias PL

Nombre	Núm. de GI o Acc	Secuencia C terminal de 20 mer	Secuencia C terminal de 4 mer	PL?	ID de PL interno
NMDAR1	307302	HPTDITGPLNLSDPSVST VV (SEQ ID NO: 13)	STVV (SEQ ID NO:27)	X	AA216
NMDAR1-1	292282	HPTDITGPLNLSDPSVST VV (SEQ ID NO: 13)	STVV (SEQ ID NO:27)	X	AA216
NMDAR1-4	472845	HPTDITGPLNLSDPSVST VV (SEQ ID NO: 13)	STVV (SEQ ID NO:27)	X	AA216
NMDAR1-3b	2343286	HPTDITGPLNLSDPSVST VV (SEQ ID NO: 13)	STVV (SEQ ID NO:27)	X	AA216
NMDAR1-4b	2343288	HPTDITGPLNLSDPSVST VV (SEQ ID NO: 13)	STVV (SEQ ID NO:27)	X	AA216
NMDAR1-2	11038634	RRAIEREEGQLQLCSRH RES (SEQ ID NO: 14)	HRES (SEQ ID NO:28)		
NMDAR1-3	11038636	RRAIEREEGQLQLCSRH RES (SEQ ID NO: 14)	HRES (SEQ ID NO:28)		
NMDAR2C	6006004	TQGFPGPCTWRRISLES EV (SEQ ID NO: 15)	ESEV (SEQ ID NO:29)	X	AA180
NMDAR3	560546	FNGSSNGHVYEKLSSIES DV (SEQ ID NO: 11)	ESDV (SEQ ID NO:12)	X	AA34.1
NMDAR3A	17530176	AVSRKTELEEQRTSRT CES (SEQ ID NO: 16)	TCES (SEQ ID NO:30)		
NMDAR2B	4099612	FNGSSNGHVYEKLSSIES DV (SEQ ID NO: 11)	ESDV (SEQ ID NO:12)	X	
NMDAR2A	558748	LNCSNRRVYKMPSE SDV (SEQ ID NO: 17)	ESDV (SEQ ID NO:12)	X	AA34.2
NMDAR2D	4504130	GGDLGTRRGS AHFSSLE SEV (SEQ ID NO: 18)	ESEV (SEQ ID NO: 29)	X	
Receptor de glutamato delta 2	AF009014	QPTPTLGLNLGNDPDRG TSI (SEQ ID NO:19)	GTSI (SEQ ID NO:31)	X	

(continuación)

5	Receptor de glutamato 1	128953	MQSIPCMSSHSSGMPLGA TGL (SEQ ID NO:20)	ATGL (SEQ ID NO:32)	X	
	Receptor de glutamato 2	L20814	QNFATYKEGYNVYIGIES VKI (SEQ ID NO:21)	SVKI (SEQ ID NO:33)	X	
10	Receptor de glutamato 3	AF167332	QNYATYREGYNVYGTE SVKI (SEQ ID NO:22)	SVKI (SEQ ID NO:33)	X	
15	Nombre	Núm. de GI o Acc	Secuencia C terminal de 20 mer	Secuencia C terminal de 4 mer	PL?	ID de PL interno
	Receptor de glutamato 4	U16129	HTGTAIRQSSGLAVIASD LP (SEQ ID NO:23)	SDLP (SEQ ID NO:34)		
20	Receptor de glutamato 5	U16125	SFTSILTCHQRRTQRKET VA (SEQ ID NO:24)	ETVA (SEQ ID NO:35)	X	
25	Receptor de glutamato 6	U16126	EVINMHTFNDRLPGKE TMA (SEQ ID NO:25)	ETMA (SEQ ID NO:36)	X	

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

Los péptidos pueden incluir o basarse en un motivo PL del extremo C de cualquiera de las subunidades anteriores y tener una secuencia de aminoácidos que comprende [S/T]-X-[V/L]. Esta secuencia aparece en el extremo C de los péptidos de la invención. Los péptidos de la invención tienen una secuencia de aminoácidos que comprende [E/D/N/Q]-[S/T]-[D/E/Q/N]-[V/L] (SEQ ID NO:38) en su extremo C. Los péptidos comprenden: ESDV (SEQ ID NO:12) y ETDV (SEQ ID NO:39) como los aminoácidos C-terminales. Dos péptidos particularmente preferidos son KLSSIESDV (SEQ ID NO:5) y KLSSIEDV (SEQ ID NO:43). Dichos péptidos tienen habitualmente 3-25 aminoácidos (sin un péptido de internalización), se prefieren longitudes de péptido de 5-10 aminoácidos, y particularmente 9 aminoácidos (también sin un péptido de internalización). En algunos de dichos péptidos, todos los aminoácidos son del extremo C de un receptor de NMDA (sin incluir los aminoácidos de un péptido de internalización).

Otros péptidos que inhiben las interacciones entre PSD95 y NDMAR incluyen péptidos del dominio de PDZ 1 y/o 2 de PSD-95 o un subfragmento de cualquiera de estos que inhibe las interacciones entre PSD-95 y un receptor de NMDA, tal como NMDA 2B. Dichos péptidos activos comprenden al menos 50, 60, 70, 80 o 90 aminoácidos del dominio 1 de PDZ y/o el dominio 2 de PDZ de PSD-95, que se producen dentro de aproximadamente los aminoácidos 65-248 de PSD-95 proporcionados por Stathakism, Genomics 44(1):71-82 (1997) (secuencia humana) o NP_031890.1, GI: 6681195 (secuencia de ratón) o regiones correspondientes de otras variantes de especies.

Los péptidos y peptidomiméticos de la invención pueden contener residuos de aminoácidos modificados, por ejemplo, residuos que están alquilados en N. Las modificaciones de alquilo N-terminal pueden incluir, por ejemplo, N-metilo, N-etilo, N-propilo, N-butilo, N-ciclohexilmetilo, N-ciclihexiletilo, N-bencilo, N-feniletilo, N-fenilpropilo, N-(3,4-diclorofenil)propilo, N-(3,4-difluorofenil)propilo y N-(naftalen-2-il)etilo).

Bach, J. Med. Chem. 51, 6450-6459 (2008) y el documento núm. WO 2010/004003 describen una serie de análogos de NMDAR 2B 9c. La actividad de unión a PDZ es exhibida por péptidos que tienen solamente tres aminoácidos C-terminales (SDV). Bach también informa de análogos que tienen una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en YtSXV (SEQ ID NO:68), en donde t y S son aminoácidos alternativos, Y se selecciona entre E, Q y A, o análogo de los mismos, X se selecciona entre A, Q, D, N, N-Me-A, N-Me-Q, N-Me-D y N-Me-N o un análogo de los mismos. Opcionalmente, el péptido se alquila en N en la posición P3 (tercer aminoácido desde el extremo C, es decir, la posición ocupada por tS). El péptido puede alquilarse en N con un ciclohexano o sustituyente aromático, y comprende, además, un grupo espaciador entre el sustituyente y el grupo amino terminal del péptido o análogo de péptido, en donde el espaciador es un grupo alquilo, preferiblemente seleccionado entre metileno, etileno, propileno y butileno. El sustituyente aromático puede ser un motivo naftalen-2-ilo o un anillo aromático sustituido con uno o dos grupos halógeno y/o alquilo.

También pueden incorporarse otras modificaciones sin afectar adversamente la actividad y estas incluyen la sustitución de uno o más de los aminoácidos en la forma isomérica L natural con aminoácidos en la forma isomérica D. Por lo tanto, cualquier aminoácido que aparezca naturalmente en la configuración L (que también puede referirse como R o S, en dependencia de la estructura de la entidad química) puede reemplazarse con el aminoácido del mismo tipo estructural químico o un peptidomimético, pero de la quiralidad opuesta, generalmente referido como el D-aminoácido, pero que adicionalmente puede referirse como la forma R o S. Por lo tanto, un peptidomimético puede incluir 1, 2, 3, 4, 5, al menos el 50 %, o todos los residuos de D-aminoácidos. Un peptidomimético que contiene algunos o todos los residuos D se refiere a veces como un péptido "inverso".

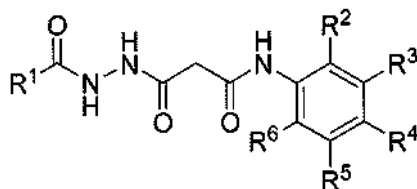
Los peptidomiméticos también incluyen retro péptidos. Un retro péptido tiene una secuencia de aminoácidos inversa. Los peptidomiméticos también incluyen péptidos retro inversos en los que se invierte el orden de los aminoácidos, de modo que el aminoácido originalmente C-terminal aparece en el extremo N y se usan los D-aminoácidos en lugar de los L-aminoácidos. El documento núm. WO 2008/014917 describe un análogo retro inverso de Tat-NR2B9c que tiene la secuencia de aminoácidos vdseisslk-rrrqrkkrgyin (SEQ ID NO:69) (las letras minúsculas indican D aminoácidos), e informa que es un inhibidor efectivo de la isquemia cerebral. Otro péptido efectivo descrito en la presente descripción es Rv-Tat-NR2B9c (RRRQRRKKRGYKLSSIESDV; SEQ ID NO:70).

Puede usarse un enlazador, por ejemplo, un enlazador de polietilenglicol, para dimerizar el motivo activo del péptido o del peptidomimético para aumentar su afinidad y selectividad hacia proteínas que contienen dominios PDZ en tándem. Ver, por ejemplo, Bach y otros, (2009) Angew. Chem. Int. Ed. 48: 9685-9689 y el documento núm. WO 2010/004003. Un péptido que contiene un motivo PL se dimeriza preferiblemente mediante la unión del extremo N de dos de dichas moléculas, lo que deja el extremo C libre. Bach informa, además, que un péptido pentámero IESDV (SEQ ID NO:71) del extremo C de NMDAR 2B fue efectivo para inhibir la unión de NMDAR 2B a PSD-95. Opcionalmente, aproximadamente 2-10 copias de un PEG pueden unirse en tándem como un enlazador.

La actividad farmacológica adecuada de los péptidos, peptidomiméticos u otro agente puede confirmarse, si se desea, mediante el uso de modelos de accidente cerebrovascular en ratas previamente descritos antes del ensayo en primates y ensayos clínicos descritos en la presente solicitud. Los péptidos o peptidomiméticos también pueden cribarse para determinar su capacidad para inhibir las interacciones entre PSD-95 y NMDAR 2B mediante el uso de los ensayos descritos, por ejemplo, en el documento núm. US 20050059597. Los péptidos útiles tienen típicamente valores de IC₅₀ de menos de 50 µM, 25 µM, 10 µM, 0,1 µM o 0,01 µM en tal ensayo. Los péptidos preferidos tienen típicamente un valor de IC₅₀ de entre 0,001-1 µM, y más preferiblemente 0,05-0,5 o de 0,05 a 0,1 µM. Cuando un péptido u otro agente se caracteriza como que inhibe la unión de una interacción, por ejemplo, la interacción de PSD-95 con NMDAR2B, dicha descripción no excluye que el péptido o el agente también inhiba otra interacción, por ejemplo, la inhibición de la unión de PSD-95 a nNOS.

Los péptidos tales como los que se acaban de describir pueden derivatizarse opcionalmente (por ejemplo, acetilarse, fosforilarse y/o glicosilarse) para mejorar la afinidad de unión del inhibidor, para mejorar la capacidad del inhibidor para ser transportado a través de una membrana celular o para mejorar la estabilidad. Como un ejemplo específico, para los inhibidores en los que el tercer residuo desde el extremo C es S o T, este residuo puede fosforilarse antes del uso del péptido.

Los agentes farmacológicos también incluyen moléculas pequeñas que inhiben las interacciones entre PSD-95 y 2B, y/u otras interacciones descritas anteriormente. Los inhibidores de moléculas pequeñas adecuados se describen en el documento núm. WO/2009/006611. Una clase ejemplar de compuestos adecuados son de la fórmula:



en donde R¹ es un miembro seleccionado del grupo que consiste en ciclohexilo sustituido con 0-4 R⁷, fenilo sustituido con 0-4 R⁷, -(CH₂)_u-(CHR⁸R⁹), un alquilo C₁₋₆ ramificado (isopropilo, isobutilo, 1-isopropil-2-metil-butilo, 1-etilpropilo), y -NH-C(O)-(CR¹⁰R¹¹)_vH;

cada R⁷ es independientemente un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, -C(O)R¹², OH, COOH, -NO, indolina N-sustituida y un péptido de translocación de la membrana celular;

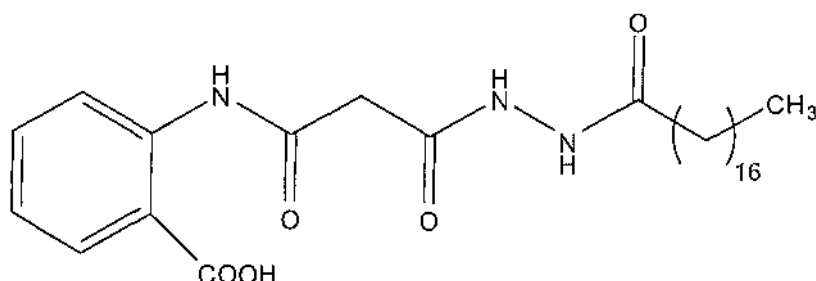
cada R⁸ y R⁹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, OH, ciclohexano, ciclopentano, fenilo, fenilo sustituido y ciclopentadieno;

cada R¹⁰ y R¹¹ se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, ciclohexano, fenilo y un péptido de translocación de la membrana celular;

R¹² es un miembro seleccionado del grupo que consiste en alquilo C₁₋₆ y arilo; y cada uno de u y v son independientemente de 0 a 20;

en donde uno de R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 es $-\text{COOH}$, y en donde el resto de R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 se seleccionan cada uno independientemente del grupo que consiste en F, H, OCH_3 y CH_3 .

Uno de estos compuestos es 0620-0057, cuya estructura es:



0620-0057

Un agente farmacológico puede enlazarse a un péptido de internalización para facilitar la captación en las células y/o a través de la barrera hematoencefálica. Los péptidos de internalización son una clase muy conocida de péptidos relativamente cortos que permiten que muchas proteínas celulares o virales atraviesen las membranas. Los péptidos de internalización, también conocidos como péptidos de transducción de membrana celular o péptidos que penetran en la célula, pueden tener, por ejemplo, 5-30 aminoácidos. Dichos péptidos tienen típicamente una carga catiónica de una representación normal anterior (relativa a las proteínas en general) de residuos de arginina y/o lisina que se cree que facilita su paso a través de las membranas. Algunos de dichos péptidos tienen al menos 5, 6, 7 u 8 residuos de arginina y/o lisina. Los ejemplos incluyen la proteína antennapedia (Bonfanti, Cancer Res. 57, 1442-6 (1997)) (y variantes de la misma), la proteína tat del virus de la inmunodeficiencia humana, la proteína VP22, el producto del gen UL49 del virus del herpes simple tipo 1, Penetratina, SynBI y 3, Transportano, Anfipático, gp41NLS, poliArg, y varias toxinas proteicas bacterianas y de plantas, tales como la ricina, abrina, modicina, toxina de la difteria, toxina del cólera, toxina del ántrax, toxinas lábiles al calor y exotoxina A de Pseudomonas aeruginosa (ETA). Otros ejemplos se describen en las siguientes referencias (Temsamani, Drug Discovery Today, 9(23):1012-1019, 2004; De Coupade, Biochem J., 390:407-418, 2005; Saalik Bioconjugate Chem. 15: 1246-1253, 2004; Zhao, Medicinal Research Reviews 24(1):1-12, 2004; Deshayes, Cellular and Molecular Life Sciences 62:1839-49, 2005).

Un péptido de internalización preferido es tat del virus del VIH. Un péptido tat informado en un trabajo previo comprende o consiste en la secuencia de aminoácidos estándar YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO:2) encontrada en la proteína Tat del VIH. Si están presentes residuos adicionales que flanquean dicho resto tat (además del agente farmacológico), los residuos pueden ser, por ejemplo, aminoácidos naturales que flanquean este segmento de una proteína tat, aminoácidos espaciadores o enlazadores de un tipo usado típicamente para unir dos dominios peptídicos, por ejemplo, gly (ser)4 (SEQ ID NO:44), TGEKP (SEQ ID NO:45), GGRRGGGS (SEQ ID NO:46), o LRQRDGERP (SEQ ID NO:47) (ver, por ejemplo, Tang y otros (1996), J. Biol. Chem. 271, 15682-15686; Hennecke y otros (1998), Protein Eng. 11, 405-410), o puede ser cualquier otro aminoácido que no reduzca significativamente la capacidad para conferir la captación de la variante sin los residuos flanqueantes. Preferiblemente, el número de aminoácidos flanqueantes distintos de un péptido activo no excede de diez a cada lado de YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO:2). Un péptido tat adecuado que comprende residuos de aminoácidos adicionales que flanquean el extremo C de YGRKKRRQRRR (SEQ ID NO:2) es YGRKKRRQRRRPQ (SEQ ID NO:48). Sin embargo, preferiblemente, no están presentes aminoácidos flanqueantes. Otros péptidos tat que pueden usarse incluyen GRKKRRQRRRPQ (SEQ ID NO:4) y GRKKRRQRRRPQ (SEQ ID NO:72).

Las variantes del péptido tat anterior que tienen una capacidad reducida para unirse a los canales de calcio de tipo N se describen por el documento núm. WO/2008/109010. Dichas variantes pueden comprender o consistir en una secuencia de aminoácidos XGRKKRRQRRR (SEQ ID NO:49), en la que X es un aminoácido distinto de Y o nada (en cuyo caso G es un residuo N-terminal libre). Un péptido tat preferido tiene el residuo Y N-terminal sustituido con F. Por lo tanto, se prefiere un péptido tat que comprende o que consiste en FGRKKRRQRRR (SEQ ID NO:3). Otra variante preferida del péptido tat consiste en GRKKRRQRRR (SEQ ID NO:1). Otro péptido tat preferido comprende o consiste en RRRQRRKKRG (aminoácidos 1-11 de la SEQ ID NO:70). Otros péptidos derivados de tat que facilitan la captación de un agente farmacológico sin inhibir los canales de calcio de tipo N incluyen los que se presentan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2:

	X-FGRKKRRQRRR (F-Tat) (SEQ ID NO:3)
5	X-GKKKKKQKKK (SEQ ID NO:50)
	X-RKKRRQRRR (SEQ ID NO:51)
	X-GAKKRRQRRR (SEQ ID NO:52)
10	X-AKKRRQRRR (SEQ ID NO:53)
	X-GRKARRQRRR (SEQ ID NO:54)
	X-RKARRQRRR (SEQ ID NO:55)
15	X-GRKKARQRRR (SEQ ID NO:56)
	X-RKKARQRRR (SEQ ID NO:57)
	X-GRKKRRQARR (SEQ ID NO:58)
20	X-RKKRRQARR (SEQ ID NO:59)
	X-GRKKRRQRAR (SEQ ID NO:60)
	X-RKKRRQRAR (SEQ ID NO:61)
25	X-RRPRRPRRPRR (SEQ ID NO:62)
	X-RRARRARRARR (SEQ ID NO:63)
	X-RRRARRRARR (SEQ ID NO:64)
30	X-RRRPRRPRRPRR (SEQ ID NO:65)
	X-RRPRRPRR (SEQ ID NO:66)
	X-RRARRARR (SEQ ID NO:67)

35 X puede representar un extremo amino libre, uno o más aminoácidos, o un motivo conjugado. Los péptidos de internalización pueden usarse en forma inversa o retro o retro inversa con o sin el péptido enlazado o el peptidomimético en dicha forma. Por ejemplo, un péptido quimérico preferido tiene una secuencia de aminoácidos que comprende o consiste en RRRQRRKKRGYKLSSIESDV (SEQ ID NO:70).

40 Los péptidos de internalización pueden unirse a agentes farmacológicos por métodos convencionales. Por ejemplo, los agentes pueden unirse a péptidos de internalización por enlace químico, por ejemplo, a través de un agente de acoplamiento o conjugación. Numerosos de dichos agentes están disponibles comercialmente y se revisan por S. S. Wong, Chemistry of Protein Conjugation and Cross-Linking, CRC Press (1991). Algunos ejemplos de reactivos de reticulación incluyen 3-(2-piridilditio) propionato de J-succinimidilo (SPDP) o N,N'-(1,3-fenileno) bismaleimida; N,N'-etilen-bis-(yodoacetamida) u otro reactivo de este tipo que tenga puentes de metileno de 6 a 11 carbonos (lo que es relativamente específico para los grupos sulfhidrilo); y 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenceno (que forma enlaces irreversibles con grupos amino y tirosina). Otros reactivos de reticulación incluyen p,p'-difluorom, m'-dinitrodifenilsulfona (que forma enlaces cruzados irreversibles con grupos amino y fenólicos); adipimidato de dimetilo (que es específico para grupos amino); cloruro de fenol-1,4-disulfonilo (que reacciona principalmente con grupos amino); hexametilendiisocianato o diisotiocianato, o azofenil-p-diisocianato (que reacciona principalmente con grupos amino); glutaraldehído (que reacciona con varias cadenas laterales diferentes) y disdiazobencidina (que reacciona principalmente con tirosina e histidina).

55 Para agentes farmacológicos que son péptidos, la unión a un péptido de internalización puede lograrse mediante la generación de una proteína de fusión que comprende la secuencia peptídica fusionada, preferiblemente en su extremo N, a un péptido de internalización.

Los péptidos farmacológicos, opcionalmente fusionados con los péptidos tat, pueden sintetizarse mediante síntesis en fase sólida o métodos recombinantes. Los peptidomiméticos pueden sintetizarse mediante el uso de una variedad de procedimientos y metodologías descritas en la literatura científica y de patentes, por ejemplo, Organic Syntheses Collective Volumes, Gilman y otros (Eds) John Wiley & Sons, Inc., NY, al-Obeidi (1998) Mol. Biotechnol. 9:205-223; Hruby (1997) Curr.D Opin. Chem. Biol. 1:114-119; Ostergaard (1997) Mol. Divers. 3:17-27; Ostresh (1996) Methods Enzymol. 267:220-234.

65 III. Modelo de primates no humanos

Como se discutió en la sección de Antecedentes, varios ensayos clínicos previos de agentes farmacológicos para el tratamiento del accidente cerebrovascular fallaron a pesar de que los agentes mostraron resultados prometedores en modelos animales inferiores de accidente cerebrovascular, tales como la rata. La realización de experimentos de modelos similares en primates no humanos proporcionaría un mejor indicador de cómo se comportaría un agente en seres humanos y, por lo tanto, posiblemente ahorraría el esfuerzo y los gastos de un ensayo clínico fallido. Sin embargo, los tipos de experimentos realizados en ratas normalmente implican el sacrificio del animal y, por lo tanto, serían poco éticos y/o prohibitivamente costosos de realizar en primates en la medida necesaria para evaluar un agente.

La presente solicitud proporciona un modelo de primate de enfermedad isquémica cerebral que no requiere el sacrificio del primate y da como resultado poco o ningún daño permanente al primate. La isquemia cerebral se induce al introducir partículas en un vaso sanguíneo cerebral de un primate. Las partículas pueden introducirse mediante cirugía endovascular análoga a la realizada en sujetos humanos que reciben dicha cirugía para el tratamiento de aneurismas. Las partículas usadas pueden tener un diámetro de 50-200 y preferiblemente de 75-150 o 100 micras. El número de partículas introducidas puede ser, por ejemplo, de 1-100, o de 10-30, con preferencia aproximadamente 20 por animal. La cantidad y el tamaño de las partículas aumentan la gravedad del(de los) accidente(s) cerebrovascular(es). Por ejemplo, un tamaño de partícula de 400 micras puede causar accidentes cerebrovasculares, por lo que los animales grandes pueden no recuperarse. Son adecuadas las microesferas de poliestireno de Polysciences, Inc. En el modelo puede usarse cualquier tipo de primate no humano, tales como macaco, tití, babuino o chimpancé. Puede probarse cualquier agente, incluidos los descritos anteriormente o probados previamente en modelos animales o ensayos clínicos en la técnica.

El efecto de introducir las partículas puede evaluarse, por ejemplo, mediante resonancia magnética, exploración CAT y/o conductualmente. El análisis de resonancia magnética muestra que la introducción de las partículas generalmente induce varios infartos pequeños alrededor del sitio de las partículas. El análisis de MRI es preferiblemente ponderado por difusión (DW-MRI). La MRI ponderada por difusión es una técnica estándar para obtener imágenes de un accidente cerebrovascular en el que los infartos parecen más oscuros que el tejido circundante. El uso de un pulso de gradiente bipolar y secuencias de pulso adecuadas permite la adquisición de imágenes ponderadas por difusión (imágenes en las que las áreas de difusión rápida de protones pueden distinguirse de las áreas con difusión lenta). Las imágenes ponderadas por difusión son muy útiles para identificar cualquier área de aguda isquemia y para separar el infarto agudo de los accidentes cerebrovasculares antiguos y otros cambios crónicos en el cerebro. Solo los infartos agudos aparecen hiperintensos en las imágenes de difusión.

La apariencia del infarto es similar a los infartos que se encuentran a menudo en sujetos humanos que se someten a cirugía endovascular para reparar un aneurisma. Los infartos pueden evaluarse, por ejemplo, después de 4 horas, 24 horas o 14 días después de introducir las partículas. Normalmente, la inyección de veinte microesferas de 100 micras produce entre 12 y 14 infartos detectables mediante imágenes de MRI. El volumen cerebral típico ocupado por tales infartos es de aproximadamente 5-10 mm³ cada uno, o un total de aproximadamente 60-70 +/-30 mm³. En sujetos humanos que se someten a cirugía endovascular, los infartos son más grandes, típicamente de 5-10 mm de diámetro, correspondientes a aproximadamente 0,5 a 1,5 cm³ cada uno.

Puede administrarse un agente farmacológico al primate antes, durante o después de la introducción de las partículas. En algunos métodos, el agente farmacológico se administra dentro de una ventana de 0-3 o 1-3 horas después de introducir las partículas. En otros métodos, el agente farmacológico se administra de 0-3 horas antes de introducir las partículas. El vehículo (por ejemplo, PBS) se administra habitualmente a un primate de control que también recibe las partículas en paralelo con la administración del agente farmacológico.

Los efectos del tratamiento se evalúan mediante la comparación del número, volumen y/o aparición de infartos y/o características de comportamiento entre un primate tratado o una población de primates tratados y un control o población de primates de control. Una reducción en el número y/o volumen de infartos en los primates tratados en relación con los primates de control indica que el agente tiene actividad potencialmente útil en el tratamiento de accidentes cerebrovasculares y otras enfermedades mediadas en parte por excitotoxicidad.

Se describieron una variedad de métodos para evaluar la función cognitiva o el daño neurológico en primates no humanos (ver Marshall y otros, Stroke 2003;34:2228-2233; Stroke 2001;32:190-198; Brain Res Bull 2003;61:577-585; Hatsopoulos y otros, Proc Natl Acad Sci USA 1998;95:15706-15711; Spetzler y otros, Neurosurgery 1980;7:257-261; Barbay y otros, Exp Brain Res 2006;169:106-116. Un experimento ejemplar implica acondicionar a los monos para que usen su miembro superior para guiar visualmente un cursor en la pantalla de una computadora mediante el uso de movimientos de alcance planar desde una posición central de retención hasta una posición objetivo ubicada radialmente. El tiempo necesario para mover el cursor al objetivo proporciona una medida de la función cognitiva o, a la inversa, del daño neurológico.

Una vez finalizado el análisis de los animales tratados y de control, se les da a los animales un período de recuperación durante el cual desaparece la señal de MRI ponderada por difusión de los infartos. Este período suele ser de unos 10-14 días. Después de aproximadamente 14-28 días después de insertar inicialmente las perlas, el protocolo se repite opcionalmente, sirviendo los animales tratados como controles y *viceversa*. La repetición cruzada

del protocolo entre el animal tratado y el de control sirve para eliminar cualquier sesgo de los resultados debido a anomalías de animales particulares. De acuerdo con un protocolo tan repetido, pueden obtenerse resultados confiables de un ensayo en el que participaron solo diez primates. Cada primate puede sufrir al menos cinco ciclos de inserción de partículas y después seguir con una vida normal con poco o ningún daño neurológico permanente.

El modelo experimental es particularmente útil para evaluar agentes farmacológicos para su uso en el tratamiento de un accidente cerebrovascular y para su uso como complemento en un método quirúrgico que implica cualquier manipulación de los vasos sanguíneos que irrigan el cerebro, particularmente en la reparación endovascular de aneurismas cerebrales. El ensayo también proporciona una indicación útil de la idoneidad de un agente farmacológico para su uso en el tratamiento de otras enfermedades y trastornos caracterizados por isquemia cerebral y/o mediados por excitotoxicidad. Si un agente farmacológico inhibe el desarrollo de infartos o deterioro del comportamiento neurológico en el ensayo con primates, el agente puede probarse en ensayos clínicos en humanos, por ejemplo, un ensayo en sujetos con accidente cerebrovascular o en sujetos sometidos a reparación endovascular de un aneurisma cerebral.

IV. Ensayo clínico

Los procedimientos que involucran la manipulación de los grandes vasos, como el arco aórtico (derivación cardiopulmonar), y los procedimientos en los que se introducen catéteres en las arterias carótidas cervicales, como los angiogramas cerebrales diagnósticos y terapéuticos, comúnmente desalojan materiales embólicos que pueden conducir a accidentes cerebrovasculares isquémicos de frecuencia y gravedad variables (revisado por Bendszus, *Lancet Neurol* 2006 Abril;5(4):364-72 2006). Por ejemplo, en un estudio representativo de treinta y cinco sujetos consecutivos sometidos a injerto de derivación de arteria coronaria electiva (CABG), la resonancia magnética ponderada por difusión demostró nuevas lesiones isquémicas en 9 (26 %) de los sujetos (Bendszus y otros, *Arch. Neurol.* 59 (7):1090-1095, 2002), con tales estimaciones de nuevas lesiones por MRI ponderada por difusión (DWI-MRI) que varían en la literatura hasta el 45 % en sujetos CABG (Knipp y otros, *Eur.J Cardiothorac.Surg.* 25 (5):791-80,0 2004) y 47 % en sujetos sometidos a reparaciones de válvulas cardíacas (Knipp y otros, *Eur.J.Cardiothorac.Surg.* 28 (1):88-96 2005). La mayoría de los sujetos exhiben dos o más lesiones (Knipp y otros, 2004, *supra*). Este efecto se observa en sujetos sometidos a CABG con o sin bomba, probablemente porque es la manipulación de los grandes vasos lo que es fundamental para desalojar los émbolos dañinos.

La angiografía cerebral es, en sí misma, causante de accidentes cerebrovasculares. Bendszus y otros *Lancet* 354 (9190):1594-1597 (1999) llevaron a cabo estudios similares en sujetos sometidos a angiografía cerebral diagnóstica o intervencionista.

En un estudio prospectivo de 100 angiografías consecutivas (66 procedimientos diagnósticos y 34 intervencionistas) que se realizaron en 91 sujetos, se realizó una resonancia magnética (MRI) ponderada en difusión antes y después de la angiografía para evaluar los eventos embólicos. Antes de la angiografía, no se observaron anomalías en la MRI ponderada por difusión. La resonancia magnética ponderada por difusión mostró 42 lesiones brillantes en 23 sujetos después de 23 procedimientos (17 diagnósticos, seis intervencionistas) en un patrón consistente con eventos embólicos.

Tras la angiografía diagnóstica en sujetos con antecedente de vasculopatía, la frecuencia de lesiones fue significativamente mayor que en sujetos sin factores de riesgo vascular (44 % vs. 13 %, $p=0,03$). El enrollamiento del aneurisma endovascular aumenta drásticamente el riesgo de accidentes cerebrovasculares durante el procedimiento en comparación con la angiografía diagnóstica. En un estudio prospectivo, Cronqvist y otros, *Neuroradiology* 47(11):855-73 (2005) demostraron 47 nuevos accidentes cerebrovasculares isquémicos en 37 de 40 sujetos (92,5 %) sometidos a reparación endovascular de aneurismas. En un estudio realizado en 47 sujetos sometidos a reparación neurointervencionista de aneurismas cerebrales en University Health Network, la incidencia de pequeños accidentes cerebrovasculares isquémicos detectados por imágenes DWI-MRI fue del 75 %, y la mayoría de los sujetos experimentaron al menos dos eventos embólicos. En la mayoría de los casos, los infartos cerebrovasculares que se producen tras la angiografía o la derivación cardiopulmonar son lesiones redondas de pequeño volumen, <20 mm de diámetro, con un aspecto similar al de los infartos cerebrovasculares lacunares. Aunque por lo general no producen déficits posprocedimiento inmediatos, una importante literatura ahora vincula fuertemente los pequeños accidentes cerebrovasculares adquiridos a lo largo de la vida con deterioros en la cognición, demencias vasculares de aparición temprana y enfermedad de Alzheimer (Devasenapathy y Hachinski, *Options Neurol* 2:61-72 (2000); Merino y Hachinski, *Curr Atheroscler Rep* 4:285-290 (2002); Di y Hachinski, *Curr Opin Investig Drugs* 4:1082-1087 (2003); Del y otros, *J Neurol Sci* 231:3-11 (2005); Hachinski, *Stroke* 38:1396 (2007).

Los accidentes cerebrovasculares isquémicos agudos afectan a una población de pacientes de edad avanzada que comúnmente tienen comorbilidades médicas como cardiopatía isquémica, diabetes, hipertensión y otros trastornos cuya prevalencia aumenta en décadas posteriores. Por lo tanto, la población de pacientes es más vulnerable a la toxicidad del fármaco que en general en otros ensayos clínicos. Otra dificultad para realizar un ensayo clínico en pacientes que padecen accidentes cerebrovasculares isquémicos agudos es que deben inscribirse en los ensayos dentro de un período de tiempo restringido, no recibir un seguimiento invasivo de manera uniforme y, por lo general, no son atendidos por anestesiólogos desde el principio. En el pasado, algunos ensayos clínicos para el accidente

cerebrovascular isquémico agudo tuvieron que interrumpirse debido a problemas de seguridad que surgieron en la Fase 3, a pesar de la aparente tolerabilidad del fármaco candidato en ensayos anteriores.

Los pacientes que se someten a cirugía por aneurismas intracraneales proporcionan una población de pacientes adecuada para probar los efectos de los agentes farmacológicos y representan una necesidad médica insatisfecha adicional. Dichos pacientes habitualmente son ancianos (la incidencia de diagnóstico de aneurisma alcanza su punto máximo en la sexta y séptima décadas), lo que recapitula de esta manera el intervalo de edad de la población de pacientes que padece con mayor frecuencia un accidente cerebrovascular isquémico agudo. Como se mencionó anteriormente, la gran mayoría desarrolla al menos un infarto pequeño. Además, el estándar de atención para pacientes con aneurismas normalmente incluye monitoreo constante por parte de un anestesiólogo, monitoreo cardíaco con un ECG y monitoreo invasivo, que implica líneas arteriales para monitoreo constante de la presión arterial y líneas centrales (aurícula derecha) cuando se considere necesario, monitoreo constante de la saturación de oxígeno en sangre y mediciones periódicas de gases en sangre arterial (O_2 , PCO_2 , pH) y, si es necesario, glucosa sérica y electrolitos. La administración de fármacos puede tener lugar en condiciones de intubación endotraqueal y ventilación artificial, lo que proporciona el escenario de máxima seguridad en caso de compromiso cardiorrespiratorio y permite el control final de todos los parámetros cardíacos y ventilatorios. La administración y recuperación del fármaco puede realizarse en un entorno en el que el paciente reciba atención 1:1 de un anestesiólogo y otro personal médico y paramédico, que incluye enfermeras. La viabilidad de una mayor supervisión y otras disposiciones de seguridad en un ensayo clínico brinda más oportunidades para detectar y abordar cualquier evento adverso sin terminar el ensayo clínico.

El ensayo clínico puede realizarse en cualquier población de pacientes sometidos a un procedimiento quirúrgico en un vaso sanguíneo que irriga el cerebro (que conecta el cerebro con el corazón, por ejemplo, las arterias carótidas y las venas yugulares) o en el cerebro o el CNS mismo asociado con desarrollo medible de infartos, tales como los descritos anteriormente. También pueden realizarse ensayos clínicos en pacientes que se someten a un procedimiento endovascular en una arteria que suministra sangre a la retina, el riñón, la médula espinal o las extremidades. Una clase preferida de pacientes son aquellos que se someten a cirugía endovascular para tratar un aneurisma cerebral. La cirugía endovascular puede implicar, por ejemplo, la introducción de espirales en el aneurisma o un stent en el vaso sanguíneo al que se une el aneurisma. El agente puede administrarse antes, durante o después de que se complete la cirugía endovascular. Una ventana preferida para la administración es de 30 minutos antes a 1 hora después de completar la cirugía endovascular. Por ejemplo, el agente farmacológico puede administrarse entre 0-30 minutos después de la finalización de la cirugía. El ensayo clínico es preferiblemente un ensayo de control en el que algunos pacientes recibieron un agente farmacológico y otros pacientes recibieron un placebo o un vehículo que carecía del agente farmacológico. Los efectos del tratamiento con el agente farmacológico pueden evaluarse mediante la reducción del número y/o volumen de infartos en los pacientes tratados en relación con la población de control. Los infartos pueden evaluarse en el cerebro u otros tejidos, como la retina, riñón, médula espinal y extremidades (por ejemplo, mediante resonancia magnética) en comparación con los pacientes tratados con placebo. Los déficits neurológicos también pueden evaluarse a partir de las características del comportamiento. También pueden medirse los parámetros farmacocinéticos, tales como la concentración sérica máxima del fármaco sometido a prueba, semivida en suero, área sérica bajo la curva y concentración CSF del fármaco.

Algunos agentes farmacológicos probados en dicho ensayo clínico se sometieron a pruebas previas en un modelo animal de accidente cerebrovascular u otra enfermedad isquémica cerebral. El modelo animal puede ser un modelo animal inferior, como una rata, o un modelo de primate, tal como el discutido anteriormente. Algunos agentes también se sometieron a una evaluación de seguridad en un ensayo clínico en humanos de fase I tal como se describe en los ejemplos. Si un agente farmacológico muestra evidencia de actividad útil en pacientes con aneurisma, el agente puede probarse en un ensayo clínico de pacientes con accidente cerebrovascular agudo o puede administrarse a dichos pacientes en el uso clínico habitual. Los tipos de agentes farmacológicos que pueden ensayarse incluyen los descritos anteriormente y los ensayados de otra manera en la técnica en modelos animales de accidente cerebrovascular o enfermedad isquémica cerebral o en ensayos clínicos previos.

V. Enfermedades

Los agentes farmacológicos de la invención son útiles para tratar una variedad de enfermedades, particularmente enfermedades neurológicas, y especialmente enfermedades mediadas en parte por la excitotoxicidad. Dichas enfermedades y afecciones incluyen accidente cerebrovascular, epilepsia, hipoxia, lesión traumática en el CNS no asociada con accidente cerebrovascular tal como lesión cerebral traumática y lesión de la médula espinal, otra isquemia cerebral, enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson. Otras enfermedades neurológicas tratables por agentes de la invención que no se sabe que se asocian con la excitotoxicidad incluyen la ansiedad y el dolor.

Un accidente cerebrovascular es una afección que resulta de un flujo sanguíneo deficiente en el CNS, independientemente de la causa. Las posibles causas incluyen embolia, hemorragia y trombosis. Algunas células neuronales mueren inmediatamente como resultado de la alteración del flujo sanguíneo. Estas células liberan sus moléculas componentes, que incluyen el glutamato, que a su vez activa los receptores de NMDA, que elevan los

niveles de calcio intracelular, y los niveles de enzimas intracelulares que conducen a la muerte adicional de las células neuronales (la cascada de excitotoxicidad). La muerte del tejido del CNS se conoce como infarto. El volumen de infarto (es decir, el volumen de células neuronales muertas que resulta de un accidente cerebrovascular en el cerebro) puede usarse como un indicador de la extensión del daño patológico que resulta de un accidente cerebrovascular. El efecto sintomático depende tanto del volumen de un infarto como del lugar donde se encuentra en el cerebro. El índice de discapacidad puede usarse como una medida del daño sintomático, tal como la Escala de Rankin de Resultados de Accidente Cerebrovascular (Rankin, Scott Med J;2:200-15 (1957)) y el Índice de Barthel. La escala de Rankin se basa en evaluar directamente las condiciones globales de un paciente de la siguiente manera.

Tabla 3

0	Sin síntomas en absoluto
1	No hay discapacidad significativa a pesar de los síntomas; capaz de realizar todos los deberes y actividades habituales.
2	Discapacidad leve; incapaz de llevar a cabo todas las actividades anteriores pero capaz de cuidar de sus propios asuntos sin ayuda
3	Discapacidad moderada que requiere ayuda, pero que puede caminar sin ayuda
4	Discapacidad moderada a severa; incapaz de caminar sin ayuda e incapaz de atender sus propias necesidades corporales sin ayuda.
5	Discapacidad grave; postrado en la cama, incontinente, y que requiere atención y cuidados de enfermería

El índice de Barthel se basa en una serie de preguntas sobre la capacidad del paciente para llevar a cabo 10 actividades básicas de la vida diaria, lo que da como resultado en una puntuación entre 0 y 100, una puntuación más baja que indica más discapacidad (Mahoney y otros, Maryland State Medical Journal 14:56-61 (1965)).

Alternativamente, la gravedad/resultados de los accidentes cerebrovasculares pueden medirse mediante el uso de la escala de accidentes cerebrovasculares del NIH, disponible en el sitio web mundial ninds.nih.gov/doctors/NIH_Stroke_Scale_Booklet.pdf.

La escala se basa en la capacidad de un paciente para llevar a cabo 11 grupos de funciones que incluyen evaluaciones del nivel de conciencia del paciente, funciones motoras, sensoriales y del lenguaje.

Un accidente cerebrovascular isquémico se refiere más específicamente a un tipo de accidente cerebrovascular causado por un bloqueo del flujo sanguíneo al cerebro. La afección subyacente para este tipo de bloqueo lo más comúnmente es el desarrollo de depósitos de grasa que revisten las paredes de los vasos. Esta afección se llama aterosclerosis. Estos depósitos grasos pueden causar dos tipos de obstrucción. La trombosis cerebral se refiere a un trombo (coágulo de sangre) que se desarrolla en la parte obstruida del vaso. "Embolia cerebral" se refiere generalmente a un coágulo de sangre que se forma en otra ubicación en el sistema circulatorio, habitualmente en el corazón y las arterias grandes del tórax superior y cuello. Una porción del coágulo de sangre se suelta, entra en el torrente sanguíneo y viaja a través de los vasos sanguíneos del cerebro hasta que llega a vasos demasiado pequeños que no lo dejan pasar. Una segunda causa importante de las embolias es un latido irregular, conocido como fibrilación arterial. Crea afecciones en las que los coágulos pueden formarse en el corazón, desplazarse y viajar al cerebro. Las causas potenciales adicionales del accidente cerebrovascular isquémico son hemorragia, trombosis, disección de una arteria o vena, un paro cardíaco, choque de cualquier causa, incluida hemorragia y causas iatrogénicas, tales como lesión quirúrgica directa en vasos sanguíneos del cerebro o vasos que conducen al cerebro o cirugía cardíaca. El accidente cerebrovascular isquémico representa aproximadamente el 83 por ciento de todos los casos de accidente cerebrovascular.

Los ataques isquémicos transitorios (TIA) son accidentes cerebrovasculares menores o de advertencia. En un TIA, existen condiciones indicativas de un accidente cerebrovascular isquémico y se desarrollan los signos típicos de advertencia del accidente cerebrovascular. Sin embargo, la obstrucción (coágulo de sangre) se produce durante un corto tiempo y tiende a resolverse a través de mecanismos normales. Los pacientes sometidos a cirugía cardíaca tienen un riesgo particular de ataque isquémico cerebral transitorio.

El accidente cerebrovascular hemorrágico representa aproximadamente el 17 por ciento de los casos de accidente cerebrovascular. Es el resultado de un vaso debilitado que se rompe y sangra en el cerebro circundante. La sangre se acumula y comprime el tejido cerebral circundante. Los dos tipos generales de accidentes cerebrovasculares hemorrágicos son la hemorragia intracerebral y la hemorragia subaracnoidea. El accidente cerebrovascular hemorrágico es el resultado de la ruptura de los vasos sanguíneos debilitados. Las posibles causas de ruptura de un vaso sanguíneo debilitado incluyen una hemorragia hipertensiva, en la que la presión sanguínea alta causa la ruptura de un vaso sanguíneo, u otra causa subyacente de vasos sanguíneos debilitados, tal como una malformación vascular cerebral dañada, incluido un aneurisma cerebral, una malformación arteriovenosa (AVM) o malformación cavernosa. Los accidentes cerebrovasculares hemorrágicos también pueden surgir de una transformación hemorrágica de un accidente cerebrovascular isquémico que debilita los vasos sanguíneos en el

infarto, o de una hemorragia de tumores primarios o metastásicos en el CNS que contienen vasos sanguíneos anormalmente débiles. El accidente cerebrovascular hemorrágico también puede surgir de causas iatrogénicas, tales como la lesión quirúrgica directa en un vaso sanguíneo cerebral. Un aneurisma es una dilatación de una región debilitada de un vaso sanguíneo. Si no se trata, el aneurisma continúa debilitándose hasta que se rompe y sangra en el cerebro. Una malformación arteriovenosa (AVM) es una agrupación de vasos sanguíneos anormalmente formados. Una malformación cavernosa es una anomalía venosa que puede causar una hemorragia por estructuras venosas debilitadas. Cualquiera de estos vasos puede romperse, lo que también causa sangrado en el cerebro. El accidente cerebrovascular hemorrágico también puede resultar de un trauma físico. El accidente cerebrovascular hemorrágico en una parte del cerebro puede dar lugar a un accidente cerebrovascular isquémico en otra, por la escasez de sangre perdida en el accidente cerebrovascular hemorrágico.

Una clase de pacientes susceptibles de tratamiento son los pacientes que se someten a un procedimiento quirúrgico que implica o puede implicar un vaso sanguíneo que abastece al cerebro, o de otra manera en el cerebro o el CNS. Algunos ejemplos son pacientes sometidos a baipás cardiopulmonar, colocación de stent carotídeo, angiografía diagnóstica del cerebro o arterias coronarias del arco aórtico, procedimientos quirúrgicos vasculares y procedimientos neuroquirúrgicos. Los ejemplos adicionales de dichos pacientes se discuten en la sección IV anterior. Los pacientes con un aneurisma cerebral son particularmente adecuados. Dichos pacientes pueden tratarse mediante una variedad de procedimientos quirúrgicos, que incluyen pinzar el aneurisma para interrumpir la sangre o realizar una cirugía endovascular para bloquear el aneurisma con pequeñas bobinas o introducir un stent en un vaso sanguíneo desde el que emerge un aneurisma, o insertar un microcatéter. Los procedimientos endovasculares son menos invasivos que el pinzamiento de un aneurisma y se asocian con un mejor resultado para el paciente, pero el resultado aún incluye una alta incidencia de pequeños infartos. Dichos pacientes pueden tratarse con un inhibidor de la interacción de PSD95 con NMDAR 2B y, en particular, los agentes descritos anteriormente, que incluyen el péptido YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO:6, también conocido como Tat-NR2B9c). La cronología de la administración en relación con la realización de la cirugía puede ser como se describió anteriormente para el ensayo clínico.

VI. Regímenes efectivos de administración

Un agente farmacológico opcionalmente enlazado a un péptido de internalización se administra en una cantidad, frecuencia y ruta de administración efectiva para curar, reducir o inhibir un deterioro adicional de al menos un signo o síntoma de una enfermedad en un paciente que tiene la enfermedad en tratamiento. A menos que se indique de otra manera las dosis para los agentes quiméricos, que incluyen un agente farmacológico enlazado a un péptido de internalización se refieren al agente completo en lugar de solo al componente del agente farmacológico del agente quimérico. Una cantidad terapéuticamente efectiva significa una cantidad de agente activo significativamente suficiente para curar, reducir o inhibir un deterioro adicional de al menos un signo o síntoma de la enfermedad o afección que se va a tratar en una población de pacientes (o modelos animales) que padece la enfermedad tratada con un agente de la invención en relación con el daño en una población de control de pacientes (o modelos animales) que padecen esa enfermedad o afección que no se tratan con el agente. La cantidad también se considera terapéuticamente efectiva si un paciente tratado individual logra un resultado más favorable que el resultado medio en una población control de pacientes comparables no tratados por los métodos de la invención. Un régimen terapéuticamente efectivo implica la administración de una dosis terapéuticamente efectiva a una frecuencia y ruta de administración necesarias para lograr el propósito pretendido.

Para un paciente que padece un accidente cerebrovascular u otra afección isquémica, el agente se administra en un régimen que comprende una cantidad, frecuencia y ruta de administración efectivas para reducir los efectos dañinos del accidente cerebrovascular u otra afección isquémica. Cuando la afección que requiere tratamiento es un accidente cerebrovascular, el resultado puede determinarse por el volumen de infarto o el índice de discapacidad, y una dosificación se considera terapéuticamente efectiva si un paciente tratado individual muestra una discapacidad de dos o menos en la escala de Rankin y 75 o más en la escala de Barthel, o si una población de pacientes tratados muestra una distribución de puntuaciones significativamente mejorada (es decir, menos discapacitada) en una escala de discapacidad que una población no tratada comparable, ver Lees y otros L, N Engl J Med 2006;354:588-600. Una dosis única de agente es habitualmente suficiente para el tratamiento del accidente cerebrovascular.

Se describen métodos y composiciones para la profilaxis de un trastorno en un sujeto con riesgo de ese trastorno. Habitualmente dicho sujeto tiene una mayor probabilidad de desarrollar el trastorno (por ejemplo, una afección, dolencia, trastorno o enfermedad) en relación con una población de control. La población de control, por ejemplo, puede comprender uno o más individuos seleccionados al azar de la población general (por ejemplo, con concordancia de edad, sexo, raza y/o etnicidad) que no se diagnostiquen o tengan un historial familiar del trastorno. Un sujeto puede considerarse en riesgo para un trastorno si se encuentra que un "factor de riesgo" asociado con ese trastorno se asocia con ese sujeto. Un factor de riesgo puede incluir cualquier actividad, rasgo, evento o propiedad asociada con un trastorno dado, por ejemplo, a través de estudios estadísticos o epidemiológicos en una población de sujetos. Por lo tanto, un sujeto puede clasificarse como en riesgo de padecer un trastorno, incluso si los estudios que identifican los factores de riesgo subyacentes no incluyeron específicamente al sujeto. Por ejemplo, un sujeto sometido a cirugía cardíaca está en riesgo de ataque isquémico cerebral transitorio debido a que la frecuencia del

ataque isquémico cerebral transitorio aumenta en una población de sujetos que se sometieron a una cirugía cardíaca en comparación con una población de sujetos que no lo hicieron.

Otros factores de riesgo comunes para el accidente cerebrovascular incluyen la edad, historial familiar, sexo, incidencia previa del accidente cerebrovascular, ataque isquémico transitorio o ataque cardíaco, presión sanguínea alta, tabaquismo, diabetes, enfermedad arterial carótida u otra enfermedad arterial, fibrilación auricular, y otras enfermedades cardíacas tales como enfermedad cardíaca, insuficiencia cardíaca, miocardiopatía dilatada, enfermedad de las válvulas cardíacas y/o defectos cardíacos congénitos; colesterol alto en sangre y dietas altas en grasas saturadas, grasas trans o colesterol.

Un agente farmacológico opcionalmente enlazado a un péptido de internalización se administra a un paciente con riesgo de una enfermedad pero que aún no tiene la enfermedad en una cantidad, frecuencia y ruta suficiente para prevenir, retrasar o inhibir el desarrollo de al menos un signo o síntoma de la enfermedad. Una cantidad profilácticamente efectiva significa una cantidad de agente suficiente para prevenir, inhibir o retrasar significativamente al menos un signo o síntoma de la enfermedad en una población de pacientes (o modelos animales) en riesgo de la enfermedad en relación con el agente en comparación con una población de control de pacientes (o modelos animales) con riesgo de enfermedad no tratada con un agente químico de la invención. La cantidad también se considera profilácticamente efectiva si un paciente individual tratado logra un resultado más favorable que el resultado medio en una población de control de pacientes comparables no tratados por los métodos de la invención. Un régimen profilácticamente efectivo implica la administración de una dosis profilácticamente efectiva a una frecuencia y ruta de administración necesarias para lograr el propósito pretendido. Para la profilaxis del accidente cerebrovascular en un paciente con riesgo inminente de accidente cerebrovascular (por ejemplo, un paciente sometido a cirugía cardíaca), habitualmente es suficiente una dosis única de agente.

En dependencia del agente, la administración puede ser parenteral, intravenosa, nasal, oral, subcutánea, intraarterial, intracraneal, intratecal, intraperitoneal, tópica, intranasal o intramuscular. Se prefiere la administración intravenosa para agentes peptídicos.

Para agentes químicos que incluyen un péptido de internalización, particularmente un péptido tat del VIH que comprende la secuencia de aminoácidos, la administración del agente puede o no combinarse con un agente antiinflamatorio para reducir la liberación o la histamina y sus efectos posteriores asociados con altos niveles del péptido de internalización. Los agentes preferidos para la administración conjunta son inhibidores de la desgranulación de los mastocitos, tal como la cromolina o la yodoxamida o cualquier otro listado en la presente descripción. También pueden usarse antihistamínicos o corticosteroides, particularmente en combinaciones o dosis más altas (ver el documento núm. WO2009/076105, 61/185,943; presentado: 10 de junio de 2009 y expediente de abogado núm. 026373-000920PC presentado en la presente).

Para la administración a seres humanos, una dosis preferida de agente químico Tat-NR2B9c es 2-3 mg/kg y más preferiblemente 2,6 mg/kg. Debe entenderse que las dosificaciones indicadas incluyen el margen de error inherente a la exactitud con la que pueden medirse las dosificaciones en un entorno hospitalario típico. Se prefiere la dosis porque es la dosis máxima con la que se puede administrar el agente sin la liberación de cantidades significativas de histamina y las secuelas resultantes en la mayoría de los pacientes. Aunque la liberación de histamina a dosis más altas puede controlarse mediante la coadministración de un antiinflamatorio como se analizó anteriormente y, en cualquier caso, habitualmente se resuelve espontáneamente sin eventos adversos, es mejor evitarlo mediante el mantenimiento de la dosis por debajo de 3 mg/kg y preferiblemente a 2-3 mg/kg, más preferiblemente 2,6 mg/kg. Dichas cantidades son para la administración de dosis únicas, es decir, una dosis por episodio de enfermedad.

Es mejor evitar la liberación de histamina no solo por las secuelas que se conocen bien tales como la reducción de la presión arterial, hinchazón y enrojecimiento, sino por un informe de que controlar la liberación de histamina también puede inhibir el desarrollo de infartos en un modelo animal de accidente cerebrovascular (documento núm. WO 04/071531). Por el contrario, aunque las dosis más bajas pueden ser efectivas e incluso preferibles en indicaciones que tienen un curso más crónico (por ejemplo, ansiedad, dolor, Alzheimer, Parkinson), la naturaleza extremadamente aguda del accidente cerebrovascular y condiciones similares pueden dejar muy poco espacio para una segunda administración en caso de que la primera administración resulte inadecuada o insuficiente. Por consiguiente, al tratar la presentación aguda, es preferible administrar una dosis única al nivel o aproximadamente al nivel antes del cual se produce una liberación significativa de histamina en la mayoría de los pacientes.

Las dosis indicadas anteriormente son para el agente químico Tat-NR2B9c (YGRKKRRQRRRLSSIESDV; SEC ID NO:6). Las dosificaciones equivalentes para otros agentes para lograr el mismo efecto pueden determinarse mediante varios enfoques. Para las variantes cercanas de ese agente en el que uno o unos pocos aminoácidos están sustituidos, insertados o eliminados y el peso molecular aún es el mismo en aproximadamente el +/- 25 %, las dosis anteriores aún son una buena guía. Sin embargo, en general, para otros agentes, las dosis equivalentes pueden variar en dependencia del peso molecular del agente con y sin péptido de internalización si está presente, su Kd para su objetivo, y sus parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos. Para algunos agentes, pueden calcularse dosis equivalentes para administrar una cantidad equimolar del agente farmacológico. Para otro agente, se realiza un ajuste adicional para tener en cuenta las diferencias en Kd o parámetros farmacocinéticos o

farmacodinámicos. Para algunos agentes, las dosis equivalentes se determinan empíricamente a partir de la dosis lograda para alcanzar el mismo punto final en un modelo animal o en un ensayo clínico.

Los agentes activos, tales como Tat-NR2B9c, se administran preferiblemente por infusión en un vaso sanguíneo, más preferiblemente por infusión intravenosa. El momento de la infusión puede afectar tanto a los efectos secundarios (debido, por ejemplo, a la desgranulación de los mastocitos y a la liberación de histamina) como a la eficacia. En general, para un nivel de dosificación dado, es más probable que un tiempo de infusión más corto conduzca a la liberación de histamina. Sin embargo, un tiempo de infusión más corto también puede dar lugar a una eficacia mejorada. Aunque la práctica de la invención no depende de la comprensión del mecanismo, este último resultado puede explicarse debido a que el retraso es significativo en relación con el desarrollo de la patología en el paciente y debido al hecho de que el retraso es significativo en relación con la semivida plasmática del agente quimérico, como resultado de lo cual el agente quimérico no alcanza un nivel terapéutico óptimo. Para el agente quimérico Tat-NR2B9c, un tiempo de infusión preferido que proporciona un equilibrio entre estas consideraciones es 5-15 minutos y más preferiblemente 10 minutos. Debe entenderse que los tiempos indicados incluyen una marca de error de +/- 10 %. Los tiempos de infusión no incluyen ningún tiempo adicional para que una difusión de lavado elimine las gotas remanentes de una difusión inicial que, de otra manera, transcurre hasta la compleción. Los tiempos de infusión para Tat-NR2B9c también pueden servir como una guía para otros agentes farmacológicos, opcionalmente enlazados a péptidos de internalización, particularmente variantes cercanas de Tat-NR2B9c, como se discutió anteriormente.

VII. Composiciones farmacéuticas

Los péptidos de la invención pueden administrarse en forma de una composición farmacéutica. Las composiciones farmacéuticas se fabrican típicamente bajo condiciones GMP. Las composiciones farmacéuticas para la administración parenteral son preferiblemente estériles (por ejemplo, esterilización por filtración de péptidos) y libres de pirógenos. Las composiciones farmacéuticas pueden proporcionarse en forma de dosis unitaria (es decir, la dosis para una administración única). Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de manera convencional mediante el uso de uno o más portadores, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de agentes quiméricos en preparaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la vía de administración elegida.

Una formulación ejemplar del agente quimérico Tat-NR2B9c contiene el péptido en solución salina normal (0,8-1,0 % y preferiblemente solución salina al 0,9 %) a una concentración de 10-30 mg/ml, por ejemplo, 18-20 mg/ml. Cuando se almacena congelado, dicha composición es estable (degradación insignificante o agregación del péptido) por un período de dos o más años. Aunque pueden adicionarse excipientes adicionales, la solución salina normal sin dichos excipientes es suficiente para obtener esta estabilidad. Para su uso, dicha composición se descongela y se diluye en un volumen mayor de solución salina normal para perfusión en un vaso sanguíneo. Puede prepararse otra composición mediante la liofilización del agente quimérico Tat-NR2B9c a una concentración de 1-50 mg/ml en solución salina normal en presencia o ausencia de excipientes. Dichos excipientes pueden incluir aquellos para aumentar la estabilidad o inhibir el crecimiento bacteriano, viral u otro patógeno que podría degradar el fármaco. La composición liofilizada es estable a -20 °C o a temperatura ambiente. La composición liofilizada puede reconstituirse en solución salina normal.

Ejemplos

Ejemplo 1: modelo de primate de accidente cerebrovascular isquémico

El siguiente ejemplo se realizó en diez macacos divididos en cinco sujetos de prueba y cinco controles. Cada animal se sometió al protocolo dos veces con animales de prueba en la primera ronda que sirvieron como controles en la segunda ronda y *viceversa*.

Se administraron veinte esferas de poliestireno de 100 micrómetros en un vaso intracerebral de cada animal para inducir un infarto cerebrovascular embólico. Una hora después de introducir la esfera, los animales se trataron con Tat-NR2B9c (2,6 mg/kg) o control de vehículo. Después los animales se sometieron a análisis del cerebro por MRI y examen neurológico a las 4 horas, 24 horas y 14 días después de la introducción de las esferas.

Después de 14-28 días, se repitió el procedimiento con animales de prueba que sirvieron como controles y *viceversa*.

La Figura 1 muestra la exploración por MRI de infartos 24 horas después de la inyección de esferas en un animal de control en comparación con un ser humano que se sometió a una cirugía endovascular para insertar una espiral para reparar un aneurisma. El número, tamaño y apariencia de los infartos en relación con el tamaño del cerebro son comparables entre humanos y animales.

La Figura 2 compara el número y volumen de infartos visibles por MRI en animales tratados y de control. El tratamiento con Tat-NR2B9c redujo significativamente el número y el volumen de infartos en todo el cerebro. La

Figura 3 muestra datos similares para infartos en la corteza. La reducción del número y el volumen de los infartos fue aún mayor en la corteza cerebral que en todo el cerebro. La reducción en la corteza es particularmente importante porque esta región del cerebro es principalmente responsable del funcionamiento cognitivo.

5 Ejemplo 2: tiempo de infusión

Se administró Tat-NR2B9c a ratas a 50 mg/kg y tiempos de infusión de 3 min o 60 min. La Figura 4 muestra los cambios en la presión arterial después de la administración. En ratas infundidas durante 3 minutos, la presión arterial disminuyó en aproximadamente un 50 % antes de recuperarse durante un período de 90 minutos. Para las ratas infundidas durante una hora, solo hubo una ligera reducción de la presión arterial, que también se recuperó durante un período de una hora.

También se compararon diferentes tiempos de infusión para determinar la eficacia en un modelo de rata de accidente cerebrovascular en el que ratas adultas Sprague Dawley (10-12 semanas de edad) (machos ~ 300 g, hembras ~ 250 g) se mantuvieron en ayunas durante 12-18 horas antes de someterse a una oclusión de vaso pial permanente de 3 ramas terminales de la arteria cerebral media sobre la corteza de barril de bigote (P3VO). El protocolo para el análisis de este modelo de rata se ha descrito en el documento núm. WO/2008/008348. Se administró Tat-NR2B9c a 7,6 mg/kg iv después de la oclusión del vaso en comparación con el vehículo. Se compararon dos periodos de infusión, 5 min y 1 hora. La Figura 5 muestra que el tamaño del infarto medido 24 horas después del tratamiento se redujo significativamente con respecto al placebo de solución salina con la infusión de 5 minutos, pero no con la infusión de una hora.

Ejemplo 3: Ensayo clínico de fase I

Realizamos un estudio de seguridad, tolerabilidad y farmacocinética de Tat-NR2B9c en humanos. Los sujetos eran varones normales, sanos, no fumadores o mujeres posmenopáusicas o quirúrgicamente estériles con una edad mínima de 18 años. A los sujetos se les administró Tat-NR2B9c, número de lote: 124-134-001B, o se les dio un placebo (solución salina tamponada con fosfato), número de lote: 124-134-001A, administrado como una infusión intravenosa (1061 minutos). Se dosificó a cuatro sujetos en cada una de las cohortes de la 1 a la 3, y a 10 sujetos se les administró la dosis en cada una de las cohortes de la 4 a la 8. Los 62 sujetos completaron el estudio.

Métodos

Puntos de tiempo de extracción de sangre:

Durante el período de estudio, se recolectaron 11 muestras de sangre para análisis farmacocinético de cada sujeto en los siguientes puntos de tiempo: 0,00 (antes de la dosis), 0,08 (5 minutos), de 0,17 a 0,25 (10 a 15 minutos, precisamente al final de cada dosis individual). infusión del fármaco), 0,33 (20 minutos), 0,50, 0,75, 1,00, 2,00, 6,00, 12,00 y 24,00 horas después de la dosis. Además, se recolectaron 8 muestras de sangre para el análisis de histamina de cada sujeto en los siguientes puntos de tiempo: 0,00 (antes de la dosis) y a las 0,08 (5 minutos), 0,17 (10 minutos), 0,25, 0,50, 1,00, 2,00 y 24,00 horas después de la dosis.

Evaluación de la seguridad:

La evaluación de seguridad se realizó en todos los sujetos que recibieron al menos 1 dosis durante el transcurso del estudio. Los incidentes de todos los eventos adversos (AE) se tabularon por tratamiento y número de sujeto. También se documentaron los valores absolutos de los signos vitales, parámetros del electrocardiograma (ECG), parámetros de laboratorio y exámenes físicos y se marcaron los valores fuera del intervalo normal. Se tabularon los cambios con respecto a los valores iniciales. Los EA se documentaron mediante el uso de términos del investigador y del Medical Dictionary for Regulatory Activities (MedDRA).

A. Resultados

Siete de los 8 sujetos en el grupo de dosis de 3,75 mg/kg tenían niveles de histamina superiores a 10 nmol/L (promedio 24,3 nmol/L; máximo de 39,8 nmol/L) 10 minutos después del inicio de la administración de NA 1, y 3 de los sujetos todavía tenía niveles de histamina superiores a 10 nmol/L (promedio 15,3 nmol/L; máximo de 20,3 nmol/L) 15 minutos después del inicio de la administración de NA 1.

Aparte del grupo de dosis de 3,75 mg/kg, ningún grupo de tratamiento tuvo niveles anormales significativos de histamina. El grupo de placebo y el grupo de dosis de 0,375 mg/kg tenían cada uno un sujeto que tenía un nivel elevado de histamina en un punto de tiempo, pero estos resultados fueron en el cribado y 2,00 horas después de la dosis, respectivamente. Todos los resultados anormales de histamina volvieron al intervalo normal dentro de las 24 horas posteriores a la administración del fármaco.

Cuarenta sujetos que participaron en el estudio experimentaron un total de 168 efectos adversos (AE) durante el estudio. La mayoría de los AE fueron de gravedad leve. Treinta y cuatro de los 46 sujetos de tratamiento activo (73,9

%) experimentaron al menos 1 AE, mientras que 6 de los 16 sujetos de tratamiento con placebo (37,5 %) experimentaron al menos 1 AE. Los sujetos de los grupos de dosis de 2,60 y 3,75 mg/kg experimentaron significativamente más EA que los sujetos de los grupos de dosis más bajas. No se informaron eventos adversos graves (SAE). Los AE más comunes experimentados por los sujetos que recibieron Tat-NR2B9c fueron sensación de calor (13/46; 28,3 %), prurito (12/46; 26,1 %), rubor (10/46; 21,7 %) y sequedad de boca (9/46; 19,6 %). Todos los AE se resolvieron con la excepción de 2 casos de aumento de glucosa en sangre, ya que los sujetos se perdieron durante el seguimiento.

La incidencia de AE en los grupos de dosis de 2,60 y 3,75 mg/kg fue mayor que la tasa de incidencia de AE en los grupos de dosis de placebo, 0,02, 0,08, 0,20, 0,375, 0,75 y 1,50 mg/kg. A dosis de Tat-NR2B9c $\geq 2,60$ mg/kg, se informaron con frecuencia varios AE. Estos incluyeron: (1) disminución de la presión arterial, (2) sensación de hormigueo (parestesia), (3) entumecimiento (hipoestesia), (4) enrojecimiento (eritema), (5) erupción cutánea, (6) picazón (prurito), (7) sequedad de boca, (8) náuseas, (9) sensación de calor y (10) rubor. El inicio de estos AE coincidió con la administración del fármaco del estudio y probablemente se relacionó con el fármaco del estudio.

En ensayos preclínicos en ratas, perros y primates, con Tat-NR2B9c, se observaron niveles elevados de histamina en grupos de dosis alta y probablemente fueron la fuente de efectos secundarios como hinchazón, enrojecimiento e hipotensión. En el estudio actual, los niveles de histamina estaban elevados en 7 de los 8 sujetos en el grupo de dosis más alta (3,75 mg/kg) 10 minutos después del inicio de la administración del fármaco intravenoso, y permanecieron elevados en 3 de estos sujetos 15 minutos después de la administración del fármaco, después de lo cual los niveles de tiempo volvieron al intervalo normal. Durante el mismo período de tiempo en el que se elevaron los niveles de histamina, se observaron la mayoría de los AE en el grupo de dosis de 3,75 mg/kg. Esto sugiere que los niveles elevados de histamina fueron la fuente de los AE informados con mayor frecuencia (que incluyen disminución de la presión arterial, hormigueo, entumecimiento, enrojecimiento, erupción cutánea, picazón, sequedad de boca, náuseas, sensación de calor y enrojecimiento).

Ejemplo 4: Ensayo clínico de Tat-NR2B9c en pacientes sometidos a procedimientos de reparación de aneurismas neurointervencionistas

La medida principal de eficacia es el volumen total de lesiones DWI detectables por MRI y de lesiones positivas a secuencia FLAIR después de una intervención endovascular. Si hay varios pacientes con accidente cerebrovascular de gran volumen, estos volúmenes atípicos se truncan a un máximo de 10 cc para permitir una distribución más normal de volúmenes y pruebas con estadísticas paramétricas estándar. El análisis principal es una prueba t, con una hipótesis nula de medias equivalentes en los dos grupos de tratamiento (fármaco frente a placebo) y una hipótesis alternativa de que el volumen total medio de la lesión en el grupo de tratamiento es más pequeño que el grupo de placebo. El tamaño máximo de muestra del ensayo es 400, con 200 por brazo de tratamiento.

La determinación de la eficacia de una única dosis intravenosa de agente para reducir el número de accidentes cerebrovasculares embólicos inducidos por el tratamiento endovascular se basa en los recuentos de accidentes cerebrovasculares de las secuencias de MRI DWI/FLAIR. El número de infartos cerebrovasculares por paciente en cada uno de los grupos tratados y placebo se clasifica en cinco categorías de la siguiente manera: 0 (sin infartos cerebrovasculares), 1, 2, 3 y 4 o más infartos cerebrovasculares.

La capacidad del agente para reducir el deterioro cognitivo vascular inducido por procedimientos se determina mediante el uso de una puntuación compuesta ponderada obtenida de la batería de prueba neurocognitiva.

Para determinar la eficacia del agente en la reducción de la frecuencia de accidentes cerebrovasculares grandes (volumen > 10 cc), se compara el número de infartos cerebrovasculares grandes en el grupo tratado y placebo mediante el uso de un análisis de tabla de contingencia como se indicó anteriormente.

Las puntuaciones de Rankin modificadas (mRS; intervalo, de 0 a 5, donde 0 indica que no hay síntomas residuales y 5 indica encamados, que requieren atención constante) en pacientes que se someten al procedimiento endovascular se dicotomizan en mRS de 0 a 2 (que indica funcionamiento independiente) y mRS de 3 o mayor, que indica muerte o dependencia. Los datos de la escala de infarto cerebrovascular de NIH (NIHSS; las puntuaciones van de 0 a 42, y las puntuaciones más altas indican una gravedad creciente) se evalúan como una dicotomía: NIHSS 0-1 vs. 2 o más mediante el uso de una prueba de Chi-cuadrado o exacta de Fisher. El análisis se estratifica aún más de acuerdo a si el paciente presentaba o no hemorragia subaracnoidea.

La dosificación comienza tan pronto como se completa la reparación endovascular del aneurisma cerebral (generalmente después de la inserción de la espiral o stent final) y se completa la imagen angiográfica final. El horario de la dosis comienza en el momento del inicio del goteo. La dosificación se realiza mediante la administración del contenido de la bolsa de 100 ml al sujeto a través de un catéter intravenoso insertado en una vena en la extremidad superior y mediante el uso de una bomba de infusión [por ejemplo, bomba de infusión volumétrica FLO-GARD 6201 o equivalente]. La dosificación se lleva a cabo de manera uniforme durante el transcurso de 1061 minutos mientras se administra al sujeto el contenido de la bolsa intravenosa. Se administra todo el volumen (dosis de tratamiento) de la minibolsa intravenosa. Después de la administración de la dosis, se

administra un mínimo de 10 ml (sin exceder los 15 ml) de solución salina mediante el uso de la bomba de infusión para eliminar cualquier medicamento restante que quede dentro del tubo intravenoso.

Ejemplo 5: Preparación de la dosis

Los viales de jeringa que contienen Tat-NR2B9c en solución salina normal (0,9 %) o placebo se almacenan en la farmacia de cada centro clínico a -20 °C. En la inscripción de un sujeto de estudio, uno o más (en dependencia del total requerido) de medicamento Tat-NR2B9c o viales de jeringa de placebo se eligen en la farmacia en base a un medicamento: código de aleatorización de placebo y se descongelan antes de su uso. Una jeringa para cada dosis de sujeto individual se etiqueta con el número de sujeto y se prepara calculando el volumen a extraer del vial de la jeringa de la siguiente manera: $(2,60 \text{ mg/kg} \times \text{peso del sujeto en kg}) / [\text{Potencia del fármaco en mg/ml}]$. Esto determina la cantidad de mililitros que deben introducirse en la jeringa. La jeringa que contiene Tat-NR2B9c o placebo se administra al sitio de dosificación y allí se inyecta en el puerto IV de una bolsa de goteo de 100 ml de solución salina normal al 0,9 %.

En la medida en que más de una secuencia se asocia con un número de acceso en diferentes momentos, se entienden las secuencias asociadas con el número de acceso a partir de la fecha de presentación efectiva de esta solicitud. La fecha de presentación efectiva es la fecha de la primera solicitud de prioridad que revela el número de acceso en cuestión. A no ser que sea evidente de otra manera a partir del contexto, cualquier elemento, realización, etapa, característica o apariencia de la invención se puede realizar en combinación con cualquier otro.

Listado de secuencias

<110> Tymianski, Michael
Garman, Jonathan D
NoNO, Inc.
Arbor Vita Corporation

<120> SISTEMAS Y REGÍMENES DE TRATAMIENTO MODELO PARA EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES NEUROLÓGICAS

<130> 026373-001310PC

<150> US 61/185,989

<151> 2009-06-10

<160> 72

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 10

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético tat

<400> 1

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Péptido sintético tat

<400> 2

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
1 5 10

<210> 3
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Péptido sintético tat
 <400> 3
 10
 Phe Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10
 <210> 4
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 15
 <220>
 <223> Péptido sintético tat
 20
 <400> 4
 25
 Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Gln
 1 5 10
 <210> 5
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 30
 <220>
 <223> Agente farmacológico sintético
 35
 <400> 5
 Lys Leu Ser Ser Ile Glu Ser Asp Val
 1 5
 40
 <210> 6
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 45
 <220>
 <223> Péptido Tat-NR2B9c sintético
 <400> 6
 50
 Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Lys Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ser Asp Val
 20
 55
 <210> 7
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 60
 <220>
 <223> Péptido Tat-NR2B9c sintético con 2 mutaciones puntuales en PSD-95
 dominio de unión
 65
 <400> 7

ES 2 847 293 T3

Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Lys Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ala Asp Ala
 20
 5
 <210> 8
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 10
 <220>
 <223> Péptido sintético F-Tat-NR2B9c
 <400> 8
 15
 Phe Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Lys Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ser Asp Val
 20
 20
 <210> 9
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 25
 <220>
 <223> Tat-NR2B9c K>A péptido sintético
 <400> 9
 30
 Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ser Asp Val
 20
 35
 <210> 10
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 40
 <220>
 <223> Péptido sintético F-Tat-NR2B9c K>A
 <400> 10
 45
 Phe Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Ala Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ser Asp Val
 20
 50
 <210> 11
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 55
 <220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR2B
 <400> 11
 60
 Phe Asn Gly Ser Ser Asn Gly His Val Tyr Glu Lys Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 Glu Ser Asp Val
 20
 65

<210> 12
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 5
 <220>
 <223> Motivo PL sintético de NMDAR2B
 <400> 12
 10
 Glu Ser Asp Val
 1
 <210> 13
 <211> 20
 15
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR1, NMDAR1-1, NMDAR1-4, NMDAR1-3b, NMDAR1-4b
 20
 <400> 13
 25
 His Pro Thr Asp Ile Thr Gly Pro Leu Asn Leu Ser Asp Pro Ser Val
 1 5 10 15
 Ser Thr Val Val
 20
 30
 <210> 14
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR1-2, NMDAR1-3
 <400> 14
 40
 Arg Arg Ala Ile Glu Arg Glu Glu Gly Gln Leu Gln Leu Cys Ser Arg
 1 5 10 15
 His Arg Glu Ser
 20
 45
 <210> 15
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR2C
 <400> 15
 55
 Thr Gln Gly Phe Pro Gly Pro Cys Thr Trp Arg Arg Ile Ser Ser Leu
 1 5 10 15
 Glu Ser Glu Val
 20
 60
 <210> 16
 <211> 20
 <212> PRT
 65
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR3A

<400> 16

5 Ala Val Ser Arg Lys Thr Glu Leu Glu Glu Tyr Gln Arg Thr Ser Arg
 1 5 10 15

 Thr Cys Glu Ser
 10 20

<210> 17
 <211> 20
 <212> PRT
 15 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR2A

20 <400> 17

 Leu Asn Ser Cys Ser Asn Arg Arg Val Tyr Lys Lys Met Pro Ser Ile
 1 5 10 15

25 Glu Ser Asp Val
 20

<210> 18
 <211> 20
 30 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer de NMDAR2D

35 <400> 18

 Gly Gly Asp Leu Gly Thr Arg Arg Gly Ser Ala His Phe Ser Ser Leu
 1 5 10 15

40 Glu Ser Glu Val
 20

<210> 19
 <211> 20
 45 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato delta

50 2

<400> 19

 Gln Pro Thr Pro Thr Leu Gly Leu Asn Leu Gly Asn Asp Pro Asp Arg
 1 5 10 15

55 Gly Thr Ser Ile
 20

<210> 20
 60 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 65 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 1

<400> 20

Met Gln Ser Ile Pro Cys Met Ser His Ser Ser Gly Met Pro Leu Gly
1 5 10 15

5

Ala Thr Gly Leu
20

<210> 21
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 2

15

<400> 21

Gln Asn Phe Ala Thr Tyr Lys Glu Gly Tyr Asn Val Tyr Gly Ile Glu
1 5 10 15

20

Ser Val Lys Ile
20

<210> 22
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

25

<220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 3

30

<400> 22

Gln Asn Tyr Ala Thr Tyr Arg Glu Gly Tyr Asn Val Tyr Gly Thr Glu
1 5 10 15

35

Ser Val Lys Ile
20

40

<210> 23
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 4

<400> 23

50

His Thr Gly Thr Ala Ile Arg Gln Ser Ser Gly Leu Ala Val Ile Ala
1 5 10 15

Ser Asp Leu Pro
20

55

<210> 24
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

60

<220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 5

<400> 24

65

ES 2 847 293 T3

Ser Phe Thr Ser Ile Leu Thr Cys His Gln Arg Arg Thr Gln Arg Lys
 1 5 10 15

5 Glu Thr Val Ala
 20

<210> 25
 <211> 20
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 6

15 <400> 25

Glu Val Ile Asn Met His Thr Phe Asn Asp Arg Arg Leu Pro Gly Lys
 1 5 10 15

20 Glu Thr Met Ala
 20

<210> 26
 <211> 20
 25 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 20-mer del receptor de glutamato 7

30 <400> 26

Arg Arg Leu Pro Gly Lys Asp Ser Met Ala Cys Ser Thr Ser Leu Ala
 1 5 10 15

35 Pro Val Phe Pro
 20

<210> 27
 40 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
 45 <223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer de NMDAR1, NMDAR1-1, NMDAR1-4, NMDAR1-3b, NMDAR1-4b

<400> 27

50 Ser Thr Val Val
 1

<210> 28
 <211> 4
 <212> PRT
 55 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer de NMDAR1-2, NMDAR1-3

<400> 28

60 His Arg Glu Ser
 1

<210> 29
 65 <211> 4
 <212> PRT

<213> Secuencia Artificial

<220>

<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer de NMDAR2C, NMDAR2D

5 <400> 29

Glu Ser Glu Val
1

10 <210> 30
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

15 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer de NMDAR3A

<400> 30

20 <210> 31
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

Thr Cys Glu Ser
1

25 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato delta

30 2
<400> 31

Gly Thr Ser Ile
1

35 <210> 32
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

40 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 1

<400> 32

45 <210> 33
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

Ala Thr Gly Leu
1

50 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 2 y receptor de glutamato 3

55 <400> 33

Ser Val Lys Ile
1

60 <210> 34
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

65 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 4

<400> 34

Ser Asp Leu Pro
1

5 <210> 35
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10 <220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 5

<400> 35

15 Glu Thr Val Ala
1

<210> 36
<211> 4
<212> PRT
20 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 6

25 <400> 36

Glu Thr Met Ala
1

<210> 37
30 <211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

<220>
35 <223> Secuencia sintética C-terminal de 4-mer del receptor de glutamato 7

<400> 37

Pro Val Phe Pro
1

40 <210> 38
<211> 4
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45 <220>
<223> Péptido sintético

50 <220>
<221> MOD_RES
<222> (1)..(1)
<223> Xaa = Glu, Asp, Asn o Gln

55 <220>
<221> MOD_RES
<222> (2)..(2)
<223> Xaa = Ser o Thr

60 <220>
<221> MOD_RES
<222> (3)..(3)
<223> Xaa = Asp, Glu, Gln o Asn

65 <220>
<221> MOD_RES
<222> (4)..(4)

<223> Xaa = Val o Leu

<400> 38

5 Xaa Xaa Xaa Xaa
 1

<210> 39
<211> 4
10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
<223> Péptido sintético

15 <400> 39

 Glu Thr Asp Val
 1

20 <210> 40
 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

25 <220>
 <223> Péptido sintético

<400> 40

30 Glu Thr Glu Val
 1

<210> 41
 <211> 4
 <212> PRT
35 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético
 <400> 41

40 Asp Thr Asp Val
 1

<210> 42
45 <211> 4
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

<220>
50 <223> Péptido sintético

<400> 42

 Asp Thr Glu Val
 1

55

<210> 43
 <211> 9
 <212> PRT
60 <213> Secuencia Artificial

<220>
 <223> Péptido sintético

65 <400> 43

		Lys	Leu	Ser	Ser	Ile	Glu	Thr	Asp	Val
		1				5				
5										
	<210>	44								
	<211>	5								
	<212>	PRT								
	<213>	Secuencia Artificial								
10										
	<220>									
	<223>	Péptido sintético								
	<400>	44								
15			Gly	Ser	Ser	Ser	Ser			
			1				5			
	<210>	45								
	<211>	5								
20	<212>	PRT								
	<213>	Secuencia Artificial								
	<220>									
	<223>	Péptido sintético								
25										
	<400>	45								
			Thr	Gly	Glu	Lys	Pro			
			1				5			
30										
	<210>	46								
	<211>	8								
	<212>	PRT								
	<213>	Secuencia Artificial								
35										
	<220>									
	<223>	Péptido sintético								
	<400>	46								
40										
			Gly	Gly	Arg	Arg	Gly	Gly	Gly	Ser
			1				5			
	<210>	47								
45	<211>	9								
	<212>	PRT								
	<213>	Secuencia Artificial								
	<220>									
50	<223>	Péptido sintético								
	<400>	47								
			Leu	Arg	Gln	Arg	Asp	Gly	Glu	Arg
			1				5			
55										
	<210>	48								
	<211>	13								
	<212>	PRT								
60	<213>	Secuencia Artificial								
	<220>									
	<223>	Péptido sintético								
65										
	<400>	48								

ES 2 847 293 T3

		Tyr Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro Gln
		1 5 10
5	<210> 49	
	<211> 11	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
10	<220>	
	<223> Variante sintética del péptido tat	
	<220>	
	<221> MOD_RES	
15	<222> (1)..(1)	
	<223> Xaa es cualquier aminoácido distinto de Tyr o está ausente	
	<400> 49	
20		Xaa Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
		1 5 10
	<210> 50	
	<211> 10	
25	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Péptido sintético tat	
30	<400> 50	
		Gly Lys Lys Lys Lys Lys Gln Lys Lys Lys
		1 5 10
35	<210> 51	
	<211> 9	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
40	<220>	
	<223> Péptido sintético tat	
	<400> 51	
45		Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
		1 5
	<210> 52	
50	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
55	<223> Péptido sintético tat	
	<400> 52	
		Gly Ala Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
		1 5 10
60	<210> 53	
	<211> 9	
	<212> PRT	
65	<213> Secuencia Artificial	

<220>
 <223> Péptido sintético tat

 <400> 53
 5 Ala Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5

 <210> 54
 <211> 10
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético tat
 15
 <400> 54

 Gly Arg Lys Ala Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10
 20
 <210> 55
 <211> 9
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético tat

 <400> 55
 30 Arg Lys Ala Arg Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5

 <210> 56
 <211> 10
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético tat
 40 <400> 56

 Gly Arg Lys Lys Ala Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5 10
 45
 <210> 57
 <211> 9
 <212> PRT
 50 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 <223> Péptido sintético tat

 <400> 57
 55 Arg Lys Lys Ala Arg Gln Arg Arg Arg
 1 5

 <210> 58
 60 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial

 <220>
 65 <223> Péptido sintético tat

<400> 58

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Ala Arg Arg
1 5 10

5

<210> 59
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

10

<220>
<223> Péptido sintético tat

<400> 59

15

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Ala Arg Arg
1 5

<210> 60
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

20

<220>
<223> Péptido sintético tat

25

<400> 60

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Ala Arg
1 5 10

30

<210> 61
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

35

<220>
<223> Péptido sintético tat

<400> 61

Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Ala Arg
1 5

40

<210> 62
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

45

<220>
<223> Péptido sintético tat

50

<400> 62

Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg
1 5 10

55

<210> 63
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia Artificial

60

<220>
<223> Péptido sintético tat

65

<400> 63

		Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg
		1 5 10
5	<210> 64	
	<211> 10	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
10	<223> Péptido sintético tat	
	<400> 64	
		Arg Arg Arg Ala Arg Arg Arg Ala Arg Arg
15		1 5 10
	<210> 65	
	<211> 10	
	<212> PRT	
20	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Péptido sintético tat	
25	<400> 65	
		Arg Arg Arg Pro Arg Arg Arg Pro Arg Arg
		1 5 10
30	<210> 66	
	<211> 8	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
35	<223> Péptido sintético tat	
	<400> 66	
		Arg Arg Pro Arg Arg Pro Arg Arg
40		1 5
	<210> 67	
	<211> 8	
	<212> PRT	
45	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
	<223> Péptido sintético tat	
	<400> 67	
50		Arg Arg Ala Arg Arg Ala Arg Arg
		1 5
55	<210> 68	
	<211> 4	
	<212> PRT	
	<213> Secuencia Artificial	
	<220>	
60	<223> péptido sintético análogo de NR2B9c	
	<220>	
	<221> MOD_RES	
	<222> (1)...(1)	
65	<223> Xaa = Glu, Gln y Ala, o un análogo de estos	

<220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)...(2)
 <223> Xaa = Thr o Ser
 5
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (3)...(3)
 <223> Xaa = Ala, Gln, Asp, Asn, N-Me-Ala, N-Me-Gln, N-Me-Asp y N-Me-Asn o un análogo de los estos
 10
 <400> 68
 Xaa Xaa Xaa Val
 1
 15
 <210> 69
 <211> 22
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 20
 <220>
 <223> análogo retro-inverso sintético de Tat-NR2B9c
 <400> 69
 25
 Val Asp Ser Glu Ile Ser Ser Leu Lys Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys
 1 5 10 15
 Lys Arg Gly Tyr Ile Asn
 20
 30
 <210> 70
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 35
 <220>
 <223> péptido sintético RvTat-NR2B9c
 <400> 70
 40
 Arg Arg Arg Gln Arg Arg Lys Lys Arg Gly Tyr Lys Leu Ser Ser Ile
 1 5 10 15
 45
 Glu Ser Asp Val
 20
 <210> 71
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 50
 <220>
 <223> péptido pentámero sintético del C-terminal de NMDAR 2B
 55
 <400> 71
 Ile Glu Ser Asp Val
 1 5
 60
 <210> 72
 <211> 11
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 65

<220>

<223> Péptido sintético tat

<400> 72

5

Gly Arg Lys Lys Arg Arg Gln Arg Arg Arg Pro
1 5 10

10

REIVINDICACIONES

1. Un agente que inhibe la unión de PSD-95 a NMDAR 2B para su uso en la inhibición del daño isquémico de la neurocirugía, en donde la neurocirugía es una angiografía diagnóstica del cerebro o una cirugía endovascular para tratar un aneurisma y el agente comprende un péptido con la secuencia ESDV (SEQ ID NO: 12) o ETDV (SEQ ID NO: 39) en el extremo C-terminal, en donde el péptido se enlaza a un péptido de internalización que facilita la captación del agente en las células y/o a través de la barrera hematoencefálica.
2. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se administra antes de la cirugía endovascular.
3. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se administra en el plazo de 1 hora después de completar la cirugía endovascular.
4. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la cirugía endovascular comprende insertar una espiral en el aneurisma, o la cirugía endovascular comprende insertar un stent en el vaso sujeto al aneurisma, o la cirugía endovascular comprende insertar un microcatéter.
5. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde cuando el agente es un péptido enlazado a un péptido de internalización que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO: 6) la dosis es 2-3 mg/kg y, si el agente es otro que el péptido enlazado al péptido de internalización que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV, la dosis administra la concentración efectiva equivalente del agente a 2-3 mg/kg del péptido enlazado al péptido de internalización que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV.
6. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente es el péptido enlazado al péptido de internalización que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO: 6) y la dosis es de 2,6 mg/kg, opcionalmente en donde la dosis se administra una vez episodio de la enfermedad y/o la dosis se administra sin coadministración de un agente antiinflamatorio.
7. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se administra mediante infusión intravenosa durante un período de 5-15 minutos.
8. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el agente enlazado al péptido de internacionalización es el péptido que tiene la secuencia de aminoácidos YGRKKRRQRRRLSSIESDV (SEQ ID NO: 6) y el período es de 5 minutos.
9. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el agente se administra con un agente antiinflamatorio para reducir la liberación de histamina y sus efectos posteriores por el péptido de internalización.
10. El agente para su uso de acuerdo con la reivindicación 9, en donde el agente antiinflamatorio es un inhibidor de la desgranulación de los mastocitos.
11. El agente para el uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el agente enlazado al péptido de internalización es Tat-NR2B9c y el período es de diez minutos.

Figura 1

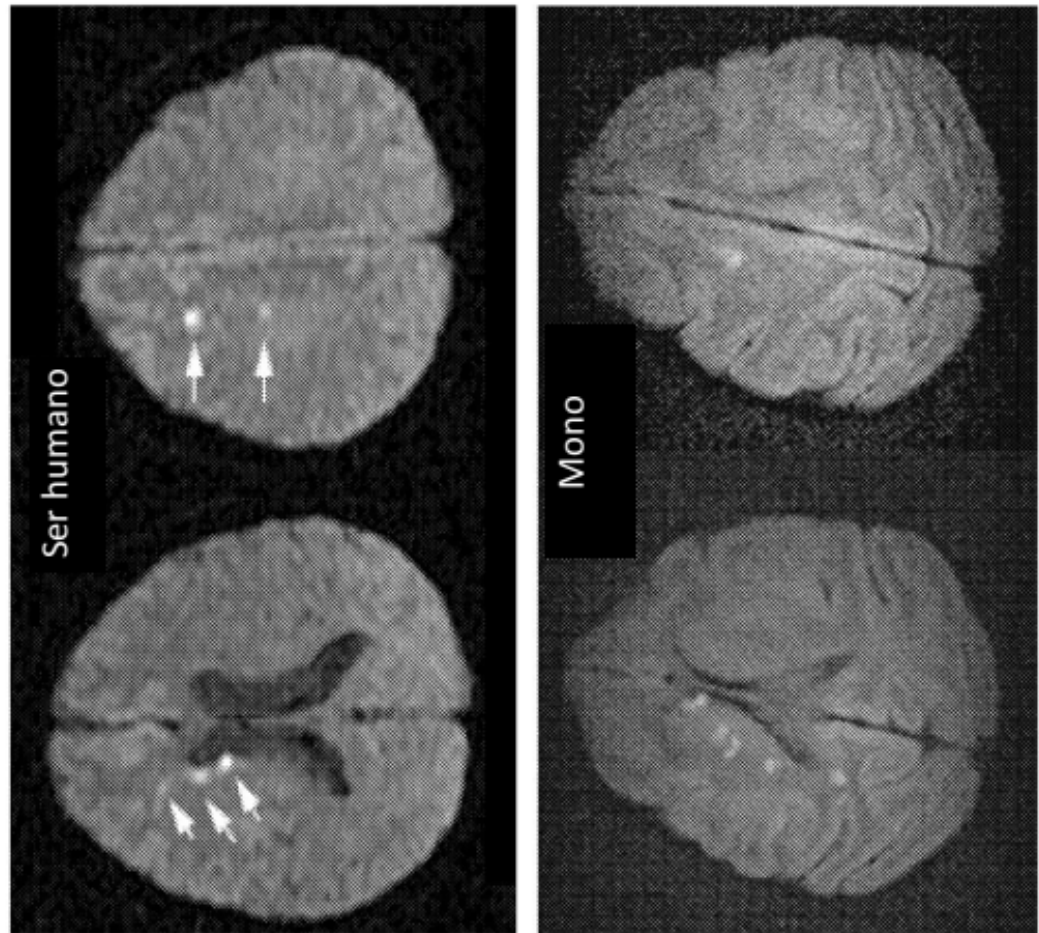


Figura 2

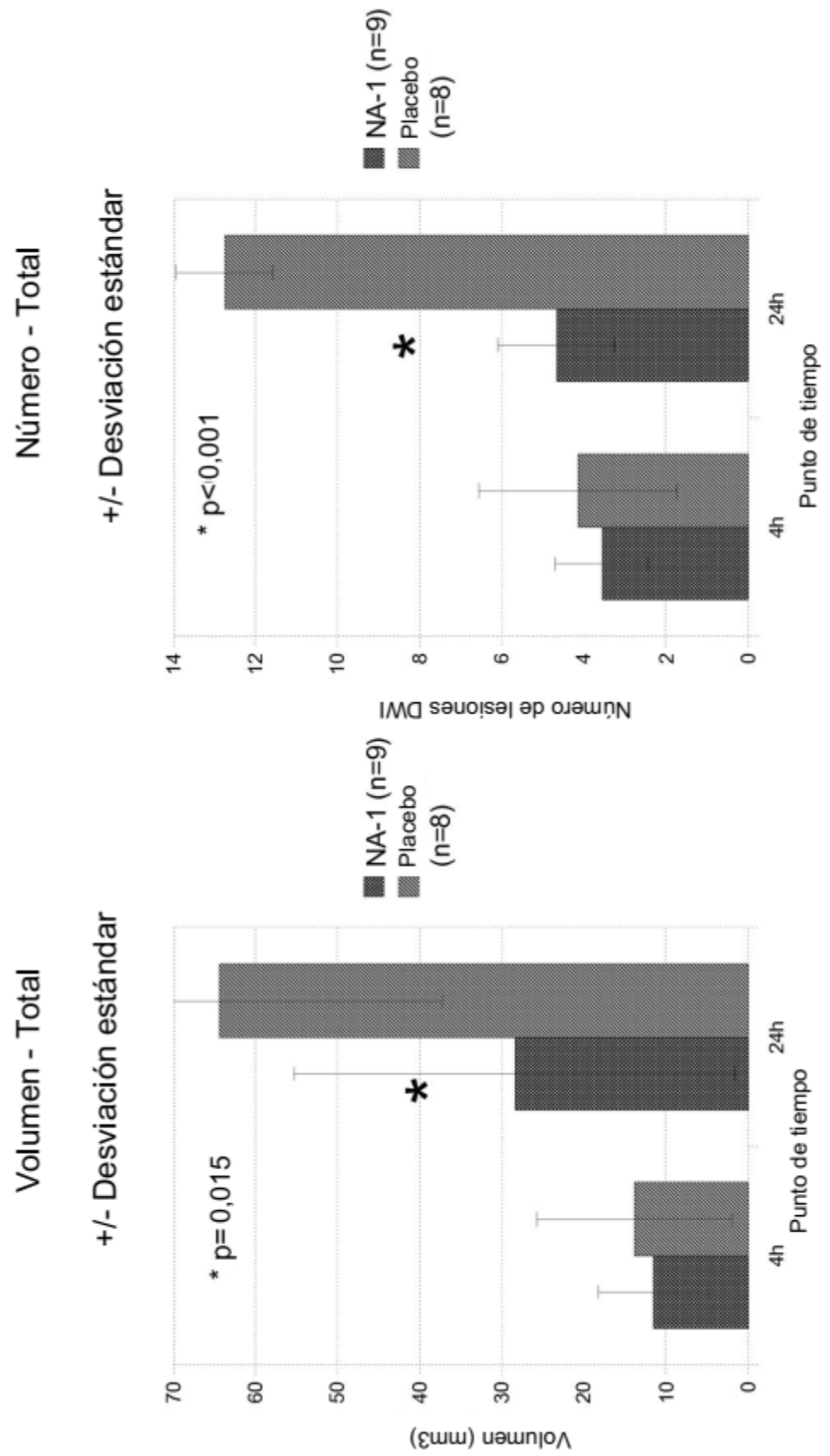


Figura 3

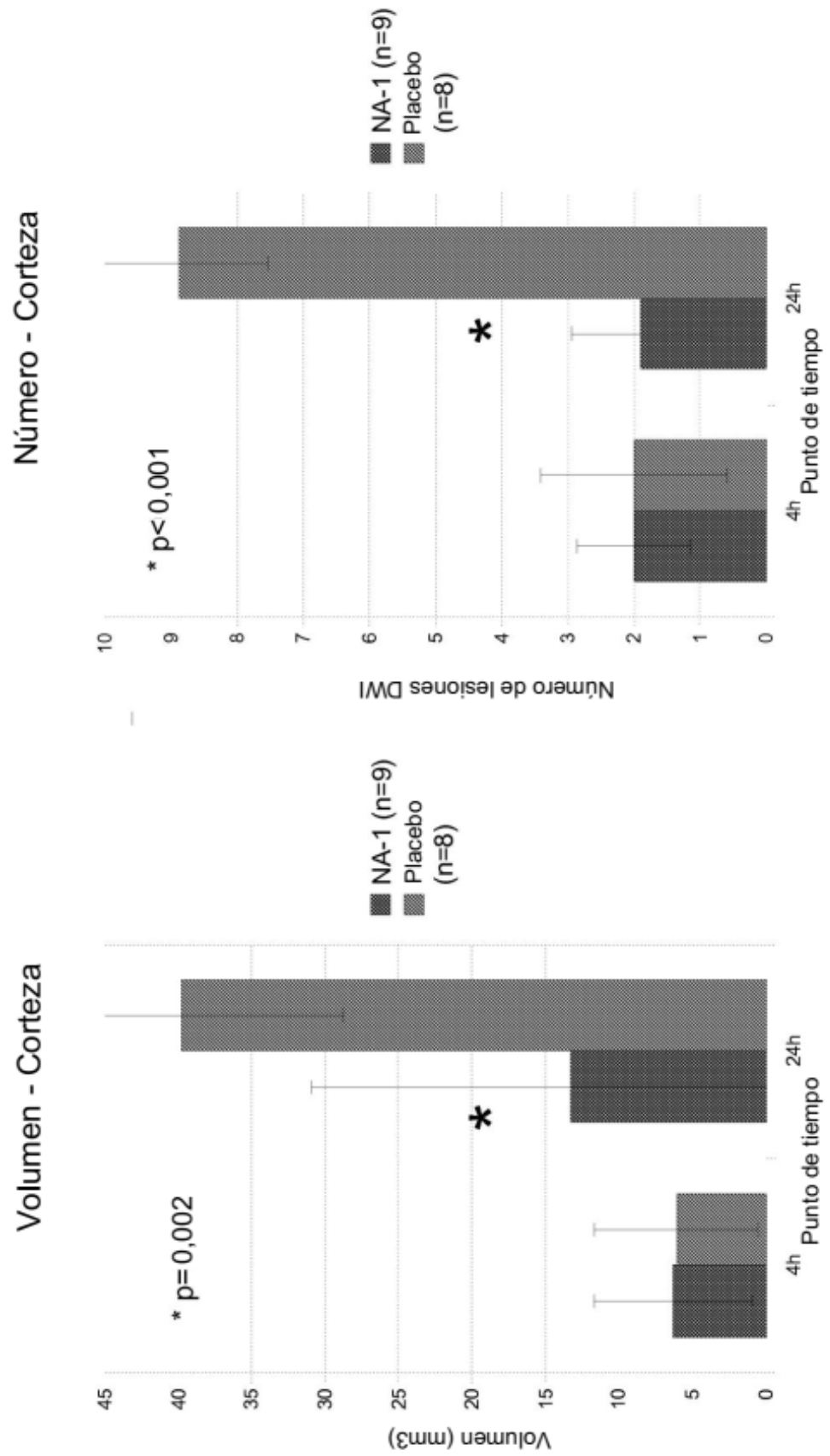


Figura 4

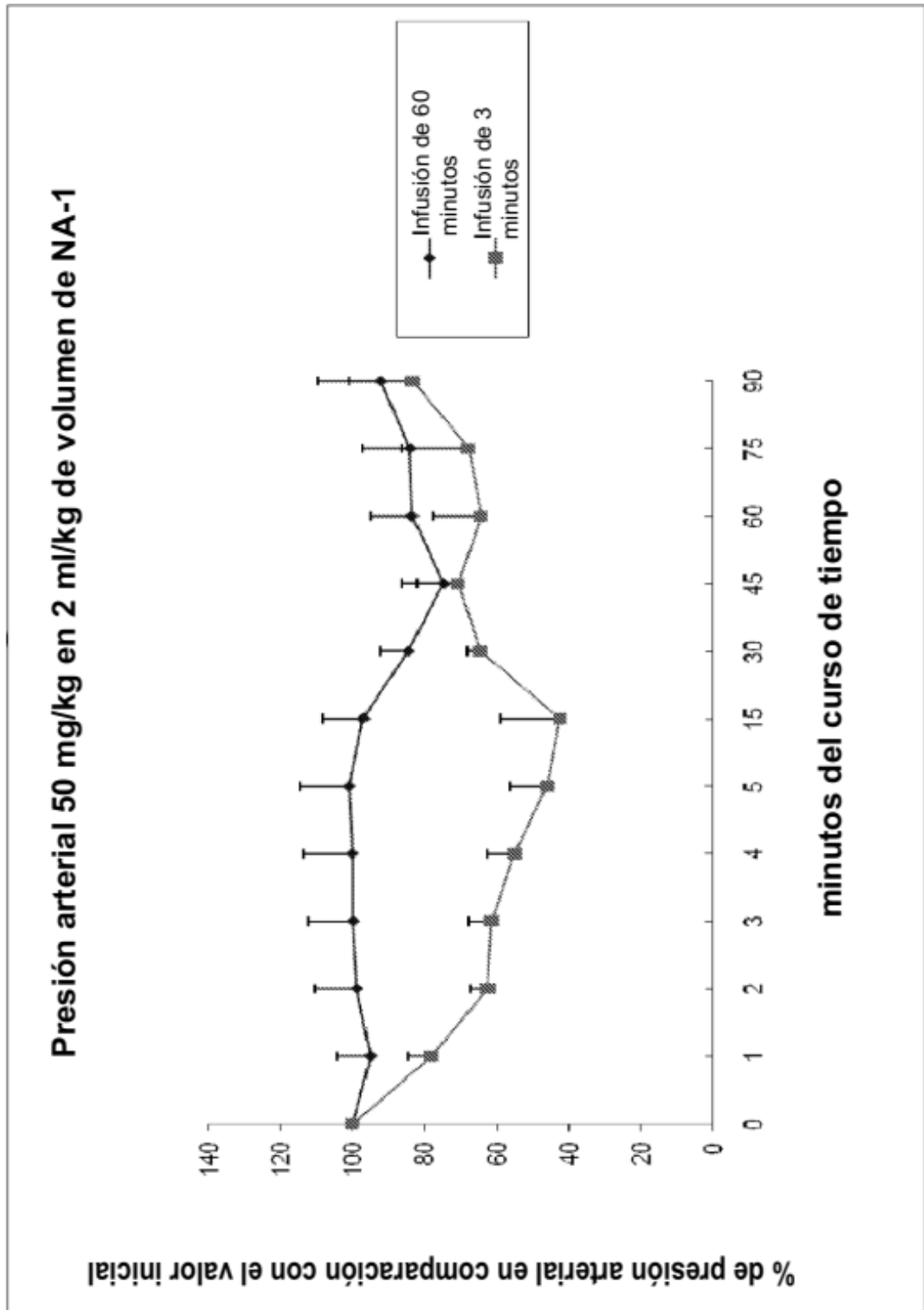


Figura 5

