

## **RIASSUNTO**

### **“USO DI AGONISTI E ANTAGONISTI DEI RECETTORI PER I GROWTH HORMONE SECRETAGOGUES PER LA PREVENZIONE E IL TRATTAMENTO DI CONVULSIONI ED EPILESSIA”**

L'invenzione riguarda l'uso di agonisti e antagonisti dei recettori per i Growth Hormone Secretagogues utili nella prevenzione e nel trattamento di convulsioni, ad esempio acute, ricorrenti, a grappolo, associate o non associate ad epilessia, e di stati epilettici, come ad esempio le crisi motorie associate ad epilessia del lobo temporale.

Tali composti possono essere somministrati da soli o in associazione con uno o più composti anticonvulsivanti o antiepilettici per la prevenzione e il trattamento delle convulsioni e dell'epilessia.

8975M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

SB/mc **“USO DI AGONISTI E ANTAGONISTI DEI RECETTORI PER I  
GROWTH HORMONE SECRETAGOGUES PER LA PREVENZIONE  
E IL TRATTAMENTO DI CONVULSIONI ED EPILESSIA”**

a nome : **1. UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA  
(60%);  
2. UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO  
EMILIA (40%)**

con sede in: 1. Milano; 2. Modena

\* \* \*

### **Campo tecnico dell'invenzione**

La presente invenzione riguarda l'utilizzo agonisti e antagonisti dei recettori per i growth hormone secretagogues (GHS), da soli o in associazione con altri composti anticonvulsivanti o antiepilettici, per la prevenzione e il trattamento di patologie convulsive e di stati epilettici.

### **Stato della tecnica**

Allo stato attuale l'approccio terapeutico alle convulsioni, causate da patologie epilettiche o da patologie di altra natura associate a manifestazioni convulsive, prevede l'impiego di farmaci che deprimono il sistema nervoso centrale e inducono sonnolenza e diminuzione dello stato di veglia.

In una percentuale rilevante di pazienti (fino al 30%) la patologia non risponde a tale terapia farmacologica.

Con il termine “crisi convulsive” si intende comprendere una varietà di sintomi neurologici dovuti ad un'attività di scarica elettrica anomala, sincronizzata e prolungata, che coinvolge cellule nervose della corteccia o del tronco cerebrale e

comporta disturbi delle funzioni motorie, sensoriali e/o intellettive.

Il 5% della popolazione sperimenta almeno una crisi convulsiva nell'arco della vita, pur non essendo necessariamente affetta da epilessia.

La diagnosi di epilessia implica il riscontro di crisi convulsive ripetute, le quali si osservano nello 0,5% della popolazione.

In base alla sintomatologia clinica e al tracciato elettroencefalografico (EEG) delle crisi convulsive, si distinguono epilessie generalizzate (le scariche anomale iniziano contemporaneamente nei due emisferi cerebrali) ed epilessie parziali o focali (le scariche anomale iniziano in una determinata parte del cervello).

Quando le scariche iniziano localmente per poi diffondersi a tutto il cervello si parla di epilessia secondaria generalizzata.

Normalmente, le crisi convulsive si risolvono spontaneamente entro pochi minuti.

Quando la crisi convulsiva perdura per un tempo prolungato o quando due o più crisi si presentano in modo ravvicinato senza che il soggetto riprenda conoscenza (cluster di convulsioni) si ha la condizione di stato di male epilettico che rappresenta (soprattutto quando le crisi sono di tipo convulsivo) un'emergenza medica che richiede una terapia immediata.

Stati epilettici protratti possono essere letali perché possono portare a grave insufficienza respiratoria.

Oltre ad essere suddivise secondo il tipo di crisi, le epilessie vengono classificate in sindromi epilettiche, che raggruppano determinati tipi di crisi con altri aspetti clinici caratteristici.

Le più importanti sindromi sono l'epilessia del lobo temporale,

l'epilessia rolandica, le epilessie miocloniche dell'infanzia e dell'età giovanile, l'epilessia con assenze, la sindrome di West e la sindrome di Lennox-Gastaut.

La farmacoterapia dell'epilessia impiega farmaci antiepilettici che con diversi meccanismi stabilizzano le proprietà elettriche della membrana delle cellule nervose, impedendo così le scariche elettriche spontanee.

Si tratta perciò di una terapia sintomatica che non elimina la causa dell'epilessia; in particolare, al momento non vi sono farmaci in grado di contrastare lo sviluppo, dopo una crisi convulsiva iniziale, di una condizione epilettica cronica.

La terapia deve essere scelta con cura, perché è prolungata e con effetti collaterali potenzialmente gravi.

La scelta del farmaco deve essere fatta considerando il tipo di crisi e la sindrome epilettica, la durata della terapia e i possibili effetti collaterali, sempre rispetto alla situazione del singolo paziente.

I classici farmaci antiepilettici sono valproato e carbamazepina (che sono spesso i farmaci di prima scelta), fenitoina e fenobarbital.

Da pochi anni è disponibile una serie di farmaci di nuova generazione (quali felbamato, gabapentin, lamotrigina, levetiracetam, oxcarbazepina, tiagabina, topiramato, vigabatrin) usati per indicazioni particolari o per aumentare l'efficacia della terapia quando la monoterapia con un antiepilettico classico non riesce a sopprimere le crisi epilettiche.

Studi clinici recenti indicano che gabapentin, lamotrigina e oxcarbazepina possono essere usati anche in monoterapia, mentre felbamato e vigabatrin comportano il rischio di effetti collaterali così seri da restringerne l'uso ad epilessie resistenti ad altri farmaci e indicazioni pediatriche particolari.

L'uso di etosuccimide è ristretto alle crisi di assenza.

Per la terapia acuta di una crisi epilettica sono disponibili diazepam, lorazepam, clonazepam e fenitoina per via endovenosa o rettale.

I farmaci antiepilettici possono interagire tra di loro e con altri farmaci con possibile variazione della loro efficacia e tossicità.

Gli effetti collaterali indesiderati più frequentemente segnalati comprendono sonnolenza, senso di affaticamento, vertigini, atassia, dispnea, alterazioni gastrointestinali.

Poiché l'epilessia interessa in molti casi l'età riproduttiva, la gravidanza pone questioni particolari per la farmacoterapia, in quanto nessuno dei farmaci è privo di rischio teratogeno.

L'efficacia dei contraccettivi orali può essere ridotta dalla terapia antiepilettica a causa della accelerazione del catabolismo degli estroprogestinici da parte dei farmaci antiepilettici induttori degli enzimi epatici. In alcune forme di epilessia l'aumento di rischio per crisi nel periodo mestruale (epilessie catameniali) può rendere periodicamente insufficiente la protezione farmacologica.

Circa il 30% delle epilessie non è sufficientemente controllato nonostante l'impiego combinato di più farmaci a dosaggi ritenuti terapeutici. In questo caso viene proposta l'asportazione chirurgica della regione cerebrale (nella maggior parte dei casi il lobo temporale medio) in cui originano le crisi epilettiche. Questa soluzione è applicabile solo quando la regione in cui originano le crisi epilettiche è ben identificabile e la sua rimozione non comporta deficit neurologici peggiorativi.

Pertanto sussiste tuttora la necessità di trovare nuovi composti dotati di attività anticonvulsivante, utili nel trattamento di crisi convulsive associate a

varie forme di epilessia e di crisi convulsive non epilettiche dipendenti da qualsivoglia alterazione del sistema nervoso centrale.

I growth hormone secretagogues (GHS) sono un gruppo di molecole sia naturali che sintetiche il cui capostipite, sintetizzato nei primi anni '80, dimostrava una potente attività GH-secretagoga. Questi composti si sono dimostrati in grado di agire sinergicamente con il GHRH (Growth Hormone Releasing Hormone) *in vivo*, e in maniera additiva *in vitro* sulla secrezione di GH attraverso l'interazione con un recettore specifico, il GHS-R1a.

Ghrelin è un peptide endogeno di 28 aminoacidi che si lega in maniera specifica al GHS-R1a e stimola efficacemente il rilascio di GH e l'appetito.

Oltre alla capacità di modificare la secrezione di GH, e in misura minore di prolattina e cortisolo, diversi GHS sembrano dotati di altre attività extraendocrine. Alcuni GHS dimostrano solo attività endocrine, altri solo extraendocrine, altri ancora una combinazione di alcune attività endocrine ed extraendocrine.

### **Sommario dell'invenzione**

La presente invenzione è relativa all'uso di agonisti e antagonisti dei recettori per Growth Hormone Secretagogues (GHS) per la preparazione di medicinali utili per la prevenzione e il trattamento di convulsioni e di stati epilettici.

### **Elenco delle figure**

Figura 1 - Studio degli effetti dei GHS sull'insorgenza delle convulsioni nel ratto trattato con pilocarpina.

Figura 2 - Studio degli effetti dei GHS sulla comparsa dello stato epilettico nel ratto trattato con pilocarpina.

Figura 3 - Studio degli effetti dei GHS sulla mortalità del ratto trattato con pilocarpina.

Figura 4 - Studio degli effetti dei GHS sulla comparsa di crisi convulsive ricorrenti (SRSs) generalizzate o minori (parziali) nel ratto trattato con pilocarpina.

### **Descrizione dettagliata dell'invenzione**

La presente invenzione riguarda l'utilizzo di composti agonisti e antagonisti dei recettori dei Growth Hormone Secretagogues (GHS) per la preparazione di medicinali in grado di inibire o bloccare le crisi convulsive e lo stato epilettico, in particolare nell'uomo.

Tali composti sono in grado di inibire o bloccare le crisi convulsive, ad esempio acute, ricorrenti, a grappolo (cluster), associate o non associate ad epilessia, e gli stati epilettici, come ad esempio le crisi motorie associate ad epilessia del lobo temporale (delle quali il ratto trattato con pilocarpina costituisce un modello animale validato).

Gli agonisti e antagonisti dei recettori dei Growth Hormone Secretagogues (GHS) comprendono desacil ghrelin (1-28), acil ghrelin (1-27), desacil ghrelin (1-27), acil (des-Gln14) ghrelin (1-27), e desacil (des-Gln14) ghrelin (1-27), ed eventuali altri metaboliti, derivati o analoghi di ghrelin, a condizione che ghrelin sia escluso.

L'invenzione è relativa all'utilizzo di peptidi, pseudopeptidi (peptoidi), composti peptidomimetici, derivati peptidici o composti non peptidici ad attività agonista, agonista parziale o antagonista dei recettori dei GHS.

Esempi di composti che possono essere usati secondo la presente invenzione sono l'esapeptide EP80317, hexarelin e suoi analoghi, rispettivamente descritti in WO 91/18016, WO 96/10040, WO 01/96300, WO 02/08250 e WO 03/004518.

Antagonisti non peptidici di ghrelin utilizzabili sono descritti in

WO 2005/30734.

Esempi di GHS di tipo peptidomimetico sono descritti in WO 96/15148, mentre pseudopeptidi sono noti da WO 2005/105828.

Inoltre, sono particolarmente preferiti EP80317, hexarelin e suoi derivati o analoghi (in particolare quelli contrassegnati dai codici EP71563, EP70905, EP70555, EP80279, EP80874, EP255, EP256, EP71180, EP80089, EP70760, EP92440, EP930497).

La struttura e la sequenza di alcuni derivati o analoghi sopra citati sono riportate in Tabella. Le sequenze riportate in Tabella sono identificate nell'allegata lista delle sequenze, a cui si fa riferimento (SEQ. ID No:).

| Codice                             | Formula di struttura del composto  | SEQ ID No:    |
|------------------------------------|--|---------------|
| EP71563                            | Cys-Tyr-GAB-D-Mrp-D-Mrp-Lys-NH <sub>2</sub>  | SEQ ID No: 1  |
| EP80317                            | Haic-D-Mrp-D-Lys-Trp-D-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 2  |
| EP70905                            | S,S_Spiro_Pro_Leu_-D-2Me-Trp-dLys-Trp-dPhe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 3  |
| EP70555                            | GAB-D-Trp(2Me)-D-Trp(2Me)-D-Trp(2Me)-Arg(NO <sub>2</sub> )-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 4  |
| EP80279                            | Tyr-S_S_Spiro_Pro_Leu-D-2Me-Trp-dLys-Trp-dPhe-Lys-NH <sub>2</sub>  | SEQ ID No: 5  |
| EP80874                            | D-Mrp-D-Cys-Pal3-D-Trp-Lys-Val-Cys-Mrp-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 6  |
| EP255                              | Pipicolil-D-2MeTrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 7  |
| EP256                              | D- Pipicolil-D-2MeTrp-Ala-Trp-D-Phe-Lys-NH <sub>2</sub>  | SEQ ID No: 8  |
| EP71180                            | Aib-D-2Me-Trp-dTpi-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 9  |
| EP80089                            | Ser-Arg-Asp-Val-Tyr(PO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> )-Glu-Glu-Asp-Ser-Tyr-Val-Lys-Arg-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 10 |
| EP70760                            | S,S_Spiro_Pro_Leu-D-2Me-Trp-Ala-Trp-dPhe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 11 |
| EP92440                            | His-Ala-D-Trp-D-Lys-2Me-Trp-DPhe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 12 |
| EP930497                           | Tyr-Ala-His-DTrp(2Me)-Ala-Trp-DPhe-Lys-NH <sub>2</sub>   | SEQ ID No: 13 |
| JMV1843                            | H-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil  | SEQ ID No: 14 |
| JMV2959                            | (R)-N-(1-(4-(4-Metossibenzil)-5-fenetil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-(1H-indol-3-il)etil)-2-aminoacetamide   |               |
| Acil ghrelin (1-27)                | Gly - Ser - Ser (O - n - Octanoil) - Phe - Leu - Ser - Pro - Glu - His - Gln - Arg - Val - Gln - Gln - Arg - Lys - Glu - Ser - Lys - Lys - Pro - Pro - Ala - Lys - Leu - Gln - Pro | SEQ ID No: 15 |
| Desacil ghrelin (1-27)             | Gly - Ser - Ser - Phe - Leu - Ser - Pro - Glu - His - Gln - Arg - Val - Gln - Gln - Arg - Lys - Glu - Ser - Lys - Lys - Pro - Pro - Ala - Lys - Leu - Gln - Pro                    | SEQ ID No: 16 |
| Acil (des-Gln14) ghrelin (1-27)    | Gly - Ser - Ser(O - n - Octanoil) - Phe - Leu - Ser - Pro - Glu - His - Gln - Lys - Ala - Gln - Arg - Lys - Glu - Ser - Lys - Lys - Pro - Pro - Ala - Lys - Leu - Gln - Pro - Arg  | SEQ ID No: 17 |
| Desacil (des-Gln14) ghrelin (1-27) | Gly - Ser - Ser- Phe - Leu - Ser - Pro - Glu - His - Gln - Lys - Ala - Gln - Arg - Lys - Glu - Ser - Lys - Lys - Pro - Pro - Ala - Lys - Leu - Gln - Pro - Arg                     | SEQ ID No: 18 |
| Desacil ghrelin (1-28)             | Gly - Ser - Ser - Phe - Leu - Ser - Pro - Glu - His - Gln - Arg - Val - Gln - Gln - Arg - Lys - Glu - Ser - Lys - Lys - Pro - Pro - Ala - Lys - Leu - Gln - Pro - Arg              | SEQ ID No: 19 |

**Tabella**

Secondo un aspetto dell'invenzione, i composti possono essere utilizzati in forma di sali, esteri, solvati.

Secondo un ulteriore aspetto dell'invenzione, tali composti possono essere somministrati sia da soli che in associazione con altri composti, quali ad esempio anticonvulsivanti o antiepilettici, compresi i loro sali e i loro esteri.

Inoltre, l'invenzione riguarda l'uso dei composti sia da soli che in associazione con almeno un altro composto anticonvulsivante o antiepilettico, per la preparazione di medicinali in grado di inibire o bloccare le crisi convulsive, quali ad esempio quelle acute, ricorrenti, a grappolo, e lo stato epilettico, in particolare nell'uomo.

Secondo un aspetto preferito dell'invenzione, i composti anticonvulsivanti o antiepilettici possono essere scelti tra diazepam, lorazepam, midazolam, clonazepam, clorazepato, fenobarbital, metilfenobarbital, hexibarbital, fenitoina, mefenitoina, etotoina, fosfenitoina, trimetadione, fensuccimide, etosuccimide, carbamazepina, primidone, acido valproico, oxcarbazepina, felbamato, gabapentin, lamotrigina, levetiracetam, brivaracetam, lacosamide, tiagabina, zonisamide, topiramato, fenacetamide, vigabatrin, loro sali e loro esteri.

Secondo un aspetto dell'invenzione, i composti e le associazioni farmacologiche possono essere utilizzati per trattare una o più condizioni cliniche patologiche comprese nel gruppo delle convulsioni acute, convulsioni ricorrenti, convulsioni a grappolo (cluster), e dello stato epilettico in soggetti che necessitano di tale trattamento.

Il termine "trattamento" viene utilizzato con il significato di prevenire,

ridurre il rischio e/o ritardare l'insorgenza, alleviare, eradicare le patologie oggetto del trattamento.

Secondo un aspetto preferito, i composti e le associazioni farmacologiche descritte nell'invenzione possono essere utilizzate per prevenire o interrompere le convulsioni acute, le convulsioni ripetute, le convulsioni a grappolo e/o lo stato epilettico e, eventualmente, per prevenire l'insorgenza di ulteriori convulsioni successive.

Tali medicinali possono essere vantaggiosamente impiegati, ad esempio da soli o in associazioni terapeutiche, per la prevenzione e il trattamento delle convulsioni e delle crisi epilettiche in particolare in gravidanza, nei casi di farmacoresistenza ai farmaci anticonvulsivanti e antiepilettici attualmente in terapia, oppure quando gli effetti collaterali di un farmaco utilizzato in terapia ne precludono la somministrazione a lungo termine.

Gli agonisti e antagonisti del recettore GHS sono tipicamente somministrati per via orale o parenterale, a seconda delle caratteristiche farmacocinetiche di ogni singolo specifico composto. Le dosi terapeutiche efficaci potranno essere determinate da esperti del settore in base ai dati di farmacocinetica, farmacodinamica e tossicologia. Tali dosi potranno essere uguali, inferiori o superiori a quelle già note o in studio per le indicazioni note dei composti agonisti e antagonisti dei recettori per i GHS. Si presume che in linea di massima le dosi efficaci saranno quanto meno dello stesso ordine di grandezza di quelle per le indicazioni tradizionali.

Gli esempi di seguito riportati illustrano ulteriormente, ma non in modo limitativo, l'invenzione.

### Esempi

L'esperimento è stato condotto su ratti maschi adulti Sprague-Dawley (Harlan, S. Pietro al Natisone, Italia) del peso compreso tra 225-250 grammi (con un tempo di ambientamento in stabulario di almeno 4 giorni).

Il gruppo degli animali controllo (n=16) è stato trattato con iniezione intraperitoneale (i.p.) di pilocarpina (380 mg/Kg). Al fine di prevenire i disagi indotti dalla stimolazione dei recettori periferici muscarinici, i ratti hanno subito un pretrattamento con scopolamina metilnitrato per via sottocutanea (s.c.) (1 mg/Kg) 30 minuti prima della somministrazione del convulsivante.

Il protocollo a cui è stato sottoposto il gruppo degli animali trattati con farmaci (n=37) prevede il pretrattamento con scopolamina metilnitrato seguito dopo 20 minuti dalla somministrazione i.p. del farmaco e dopo ulteriori 10 minuti di pilocarpina i.p. (380 mg/Kg).

Altri gruppi di ratti sono stati trattati i.p. con 1,5 mg/Kg ghrelin (n=4), 1,5 mg/Kg desacil ghrelin (n=5), 320 µg/Kg hexarelin (n=8), 320 µg/Kg JMV1843 (H-Aib-(D)-Trp-(D)-gTrp-formil) (n=4), 320 µg/Kg JMV2959 ((R)-N-(1-(4-(4-Metossibenzil)-5-fenetil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-(1H-indol-3-il)etil)-2-aminoacetamide) (n=6) e 320 µg/Kg EP80317 (n=10).

Un gruppo di ratti è stato trattato con 1,5 mg/Kg di EP80317 immediatamente dopo la comparsa della prima crisi convulsiva (n = 5).

In tutti gli animali (n=34), lo stato epilettico indotto dalla somministrazione di pilocarpina è stato bloccato dopo 20-40 minuti dall'insorgenza della prima crisi epilettica mediante la somministrazione i.p. di diazepam (20 mg/Kg). Gli animali che non hanno sviluppato crisi epilettiche hanno ricevuto diazepam 60 minuti dopo l'iniezione della

pilocarpina.

Gli animali sono stati monitorati valutando i seguenti parametri:

- Latenza della prima crisi (periodo tra l'iniezione di pilocarpina e l'insorgenza della prima crisi, espressa in minuti)
- Latenza dello Stato Epilettico (SE) (periodo tra la prima crisi e l'instaurarsi di crisi ininterrotte, espressa in minuti)
- Durata SE (periodo tra l'instaurarsi dello SE e la somministrazione di diazepam, espressa in minuti)
- Risposta al diazepam (espressa in minuti)
- Recupero dal coma
- Mortalità (%)
- Recupero (%)
- Presenza di lesioni macroscopiche (%)
- Risposta alla pilocarpina (%)
- Induzione dello SE (%)
- Comparsa di crisi convulsive ricorrenti generalizzate o parziali, valutate secondo la scala di Racine (%)

Esempio 1: Studio degli effetti dei GHS sull'insorgenza delle convulsioni nel ratto trattato con pilocarpina

I risultati di questo esperimento, riportati nell'allegata Figura 1, dimostrano che alcuni GHS sono in grado di inibire in vivo l'insorgenza delle convulsioni in seguito alla somministrazione di pilocarpina. I dati sono espressi in % degli animali sottoposti a trattamento farmacologico. Tale effetto è particolarmente pronunciato con EP80317, raggiungendo il 50% di inibizione dell'insorgenza di convulsioni. La specificità dell'azione di questi

GHS è dimostrata dal fatto che un effetto parziale è stato misurato anche con desacil ghrelin, hexarelin e JMV1843, mentre ghrelin e JMV2959 sono risultati inattivi su questo parametro.

Esempio 2: Studio degli effetti dei GHS sulla comparsa dello stato epilettico nel ratto trattato con pilocarpina

I risultati di questo studio, riportati nell'allegata Figura 2, hanno permesso di evidenziare che EP80317 previene l'insorgenza dello stato epilettico nel 60% dei ratti trattati con pilocarpina. I dati sono espressi in % degli animali sottoposti a trattamento farmacologico. Anche desacil ghrelin e hexarelin dimostravano una attività interessante, essendo efficaci nel prevenire lo stato epilettico, rispettivamente nel 60% e nel 50% degli animali. L'effetto di JMV1843 è risultato più modesto, mentre anche su questo parametro ghrelin e JMV2959 si sono dimostrati inefficaci.

Esempio 3: Studio degli effetti dei GHS sulla mortalità del ratto trattato con pilocarpina

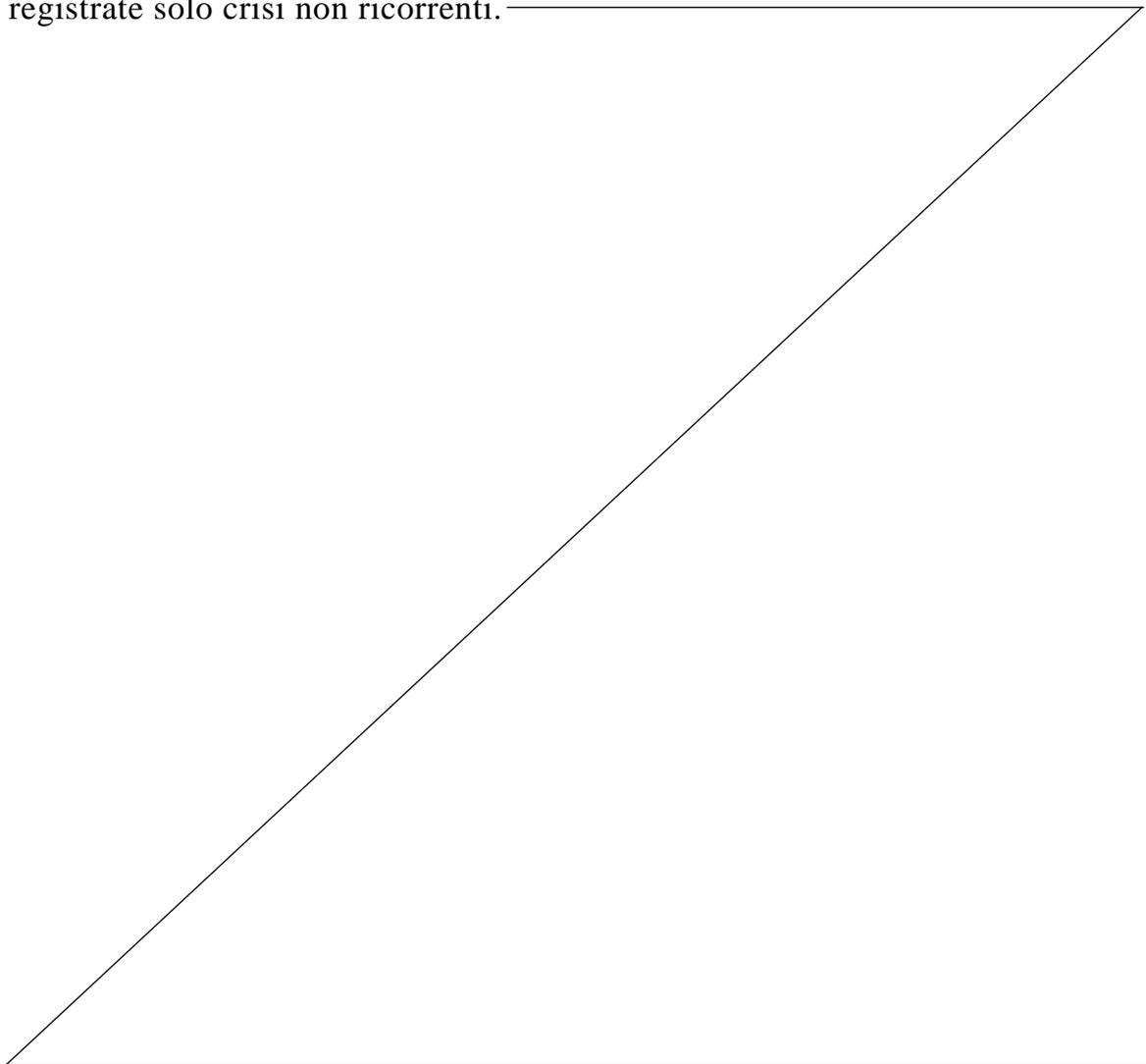
I risultati di questo studio, riportati nell'allegata Figura 3, hanno permesso di evidenziare che, mentre nel gruppo di controllo la mortalità raggiungeva il 50% dei ratti trattati con pilocarpina, il trattamento con ghrelin, desacil ghrelin, hexarelin, EP80317 e JMV1843 permetteva la sopravvivenza del 100% degli animali trattati. I dati sono espressi in % degli animali sottoposti a trattamento farmacologico. Anche in questo caso il trattamento con JMV2959 si dimostrava scarsamente o per nulla efficace.

Esempio 4: Studio degli effetti dei GHS sulla comparsa di crisi convulsive ricorrenti generalizzate o minori nel ratto trattato con pilocarpina

Si è studiato l'effetto, in particolare di EP80317, sulla epilettogenesi

(comparsa di crisi convulsive spontanee generalizzate, stadio V della scala di Racine, o parziali, stadio I-IV della stessa scala) nel ratto trattato con pilocarpina. I dati sono espressi in % degli animali sottoposti a trattamento farmacologico.

I risultati di questo studio, condotto per un periodo di tre settimane, sono riportati nell'allegata Figura 4 e hanno permesso di evidenziare che, mentre nel gruppo di controllo le crisi convulsive generalizzate ricorrenti sono comparse nel 70% dei ratti trattati con pilocarpina, il trattamento con EP80317 effettuato immediatamente dopo la comparsa della prima crisi convulsiva ha limitato i fenomeni epilettogeni nel 100% degli animali trattati. Nei ratti trattati con EP80317 non sono state osservate crisi o sono state registrate solo crisi non ricorrenti.



## **RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI**

1. Bell GS, Sander JW. The epidemiology of epilepsy: the size of the problem. *Seizure* 2001; 10:306-314.
2. Bowers, C.Y., Momany, F., Reynolds, G.A., Chang, D., Hong, A., and Chang, K., Structure-activity relationships of a synthetic pentapeptide that specifically releases growth hormone in vitro. *Endocrinology*, 1980. 106: 663-7.
3. Browne TR, Holmes GL. Epilepsy. *N Engl J Med* 2001; 344:1145-1151.
4. Chang BS, Lowenstein DH. Epilepsy. *N Engl J Med* 2003; 349:1257-1266.
5. Curia G., Longo D., Biagini G., Jones R.S., and Avoli M. (2008) The pilocarpine model of temporal lobe epilepsy. *J. Neurosci. Methods* 172, 143-157.
6. Engel J Jr; International League Against Epilepsy. A proposed diagnostic scheme for people with epileptic seizures and epilepsy: report of the ILAE Task Force on Classification and Terminology. *Epilepsia* 2001a; 42:796-803.
7. Kwan P, Brodie MJ. Early identification of refractory epilepsy. *N Engl J Med* 2000; 342:314-319.
8. Kwan P, Sperling MR. Refractory seizures: try additional antiepileptic drugs (after two have failed) or go directly to early surgery evaluation? *Epilepsia* 2009; 50:57-62.
9. Lees GV, Jones EG, McNamara J. Epilepsy. *Neurobiol Dis.* 2000;

7:549-551.

10. Olney JW, de Gubareff T, Labruyere J. Seizure-related brain damage induced by cholinergic agents. *Nature* 1983; 301:520-522.

11. Perucca E. NICE guidance on newer drugs for epilepsy in adults. *BMJ* 2004; 328:1273-1274.

12. Pitkänen A, Schwartzkroin PA, Moshé SM. Models of seizures and epilepsy. Burlington: Elsevier Academic Press; 2006. p. 712.

13. Purpura, DP, Henry JK, Woodbury DM, Tower DB, Walter RD. Experimental models of epilepsy - a manual for the laboratory worker. New York: Raven Press; 1972. p. 650.

14. Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1972; 32:281-294.

15. Sander JW. The epidemiology of epilepsy revisited. *Curr Opin Neurol* 2003; 16:165-170.

16. Sander JW, Shorvon SD. Epidemiology of the epilepsies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1996; 61:433-443.

17. Schwartzkroin PA. Epilepsy: models, mechanisms and concepts. Cambridge University Press; 1983. p. 558.

18. Spencer S, Huh L. Outcomes of epilepsy surgery in adults and children. *Lancet Neurol* 2008; 7:525-537.

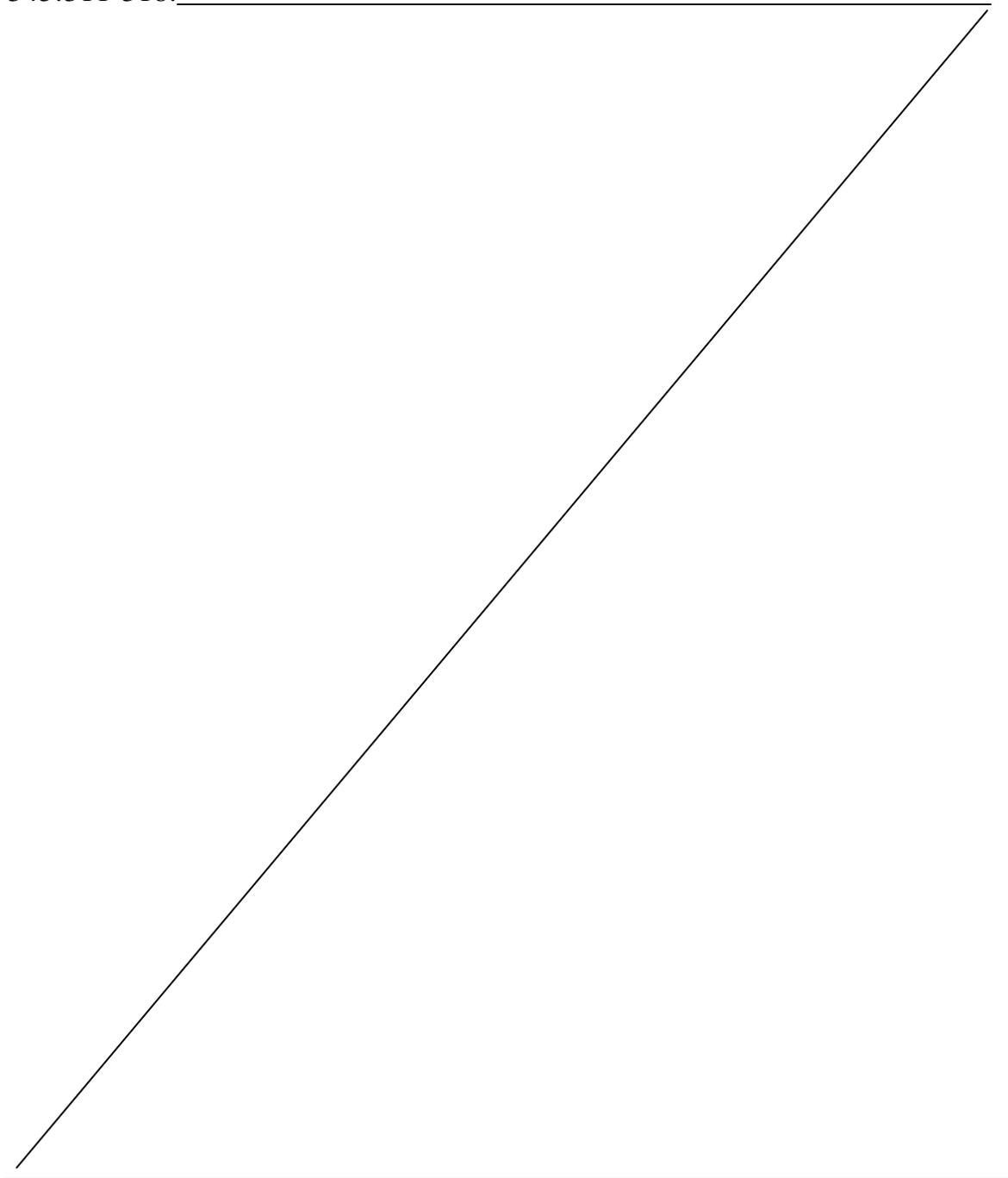
19. Turski WA, Cavalheiro EA, Schwarz M, Czuczwar SLJ, Kleinrok Z, Turski L. Limbic seizures produced by pilocarpine in rats: behavioral, electroencephalographic and morphological analysis. *Behav Brain Res* 1983a; 9:315-335.

20. Turski WA, Czuczwar SJ, Kleinrok Z, Turski L. Cholinomimetics

produce seizures and brain damage in rats. *Experientia* 1983b; 39:1408-1411.

21. Walker MC, White HS, Sander JWAS. Disease modification in partial epilepsy. *Brain* 2002; 125:1937-1950.

22. Wiebe S, Blume WT, Girvin JP, Eliasziw M, for the Effectiveness and Efficacy of Surgery for Temporal Lobe Epilepsy Study Group. A randomised, controlled trial of surgery for temporal lobe epilepsy. *N Engl J Med* 2001; 345:311-318.



LISTA DELLE SEQUENZE

<110> Università degli Studi di Milano-Bicocca  
Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia

<120> Uso di agonisti e antagonisti dei recettori per i Growth Hormone  
Secretagogues per la prevenzione e il trattamento di convulsioni  
ed epilessia

<130> 8975M

<160> 19

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è acido gamma-amino-butirrico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(5)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<400> 1

Cys Tyr Xaa Xaa Xaa Lys  
1 5

<210> 2  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è Haic

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è D-Lys

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 2

Xaa Xaa Xaa Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 3  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è S,S-Spiro-Pro

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa è D-Lys

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (6)..(6)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 3

Xaa Leu Xaa Xaa Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 4  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è GAB

<220>  
<221> MOD\_RES

<222> (2)..(4)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa è Arg(NO2)

<400> 4

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa  
1 5

<210> 5  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è S,S-Spiro-Pro

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa è D-Lys

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (7)..(7)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 5

Tyr Xaa Leu Xaa Xaa Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 6  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-Cys

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è Pal3

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa è D-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (8)..(8)  
<223> Xaa è 2-metil-Trp

<400> 6

Xaa Xaa Xaa Xaa Lys Val Cys Xaa  
1 5

<210> 7  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è Pip

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 7

Xaa Xaa Ala Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 8  
<211> 6  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è D-Pip

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 8

Xaa Xaa Ala Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 9  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è D-Tpi

<400> 9

Xaa Xaa Xaa  
1

<210> 10  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (5)..(5)

<223> Xaa è Tyr(PO3H2)

<400> 10

Ser Arg Asp Val Xaa Glu Glu Asp Ser Tyr Val Lys Arg  
1 5 10

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificiale

<220>

<223> Peptide sintetico

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (1)..(1)

<223> Xaa è S,S-Spiro-Pro

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)

<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (6)..(6)

<223> Xaa è D-Phe

<400> 11

Xaa Leu Xaa Ala Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 12

<211> 7

<212> PRT

<213> Artificiale

<220>

<223> Peptide sintetico

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (3)..(3)

<223> Xaa è D-Trp

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (4)..(4)

<223> Xaa è D-Lys

<220>

<221> MOD\_RES

<222> (5)..(5)

<223> Xaa è 2-metil-Trp

<220>

<221> MOD\_RES  
<222> (6)..(6)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 12

His Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Lys  
1 5

<210> 13  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (4)..(4)  
<223> Xaa è D-2-metil-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (7)..(7)  
<223> Xaa è D-Phe

<400> 13

Tyr Ala His Xaa Ala Trp Xaa Lys  
1 5

<210> 14  
<211> 3  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (1)..(1)  
<223> Xaa è H-Aib

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (2)..(2)  
<223> Xaa è D-Trp

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è D-gTrp-formil

<400> 14

Xaa Xaa Xaa  
1

<210> 15  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è Ser(O-n-Octanoil)

<400> 15

Gly Ser Xaa Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
20 25

<210> 16  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 16

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro  
20 25

<210> 17  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Artificiale

<220>  
<223> Peptide sintetico

<220>  
<221> MOD\_RES  
<222> (3)..(3)  
<223> Xaa è Ser(O-n-Octanoil)

<400> 17

Gly Ser Xaa Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Arg Lys Glu  
1 5 10 15

Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 18  
<211> 27  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 18

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Lys Ala Gln Arg Lys Glu  
1 5 10 15

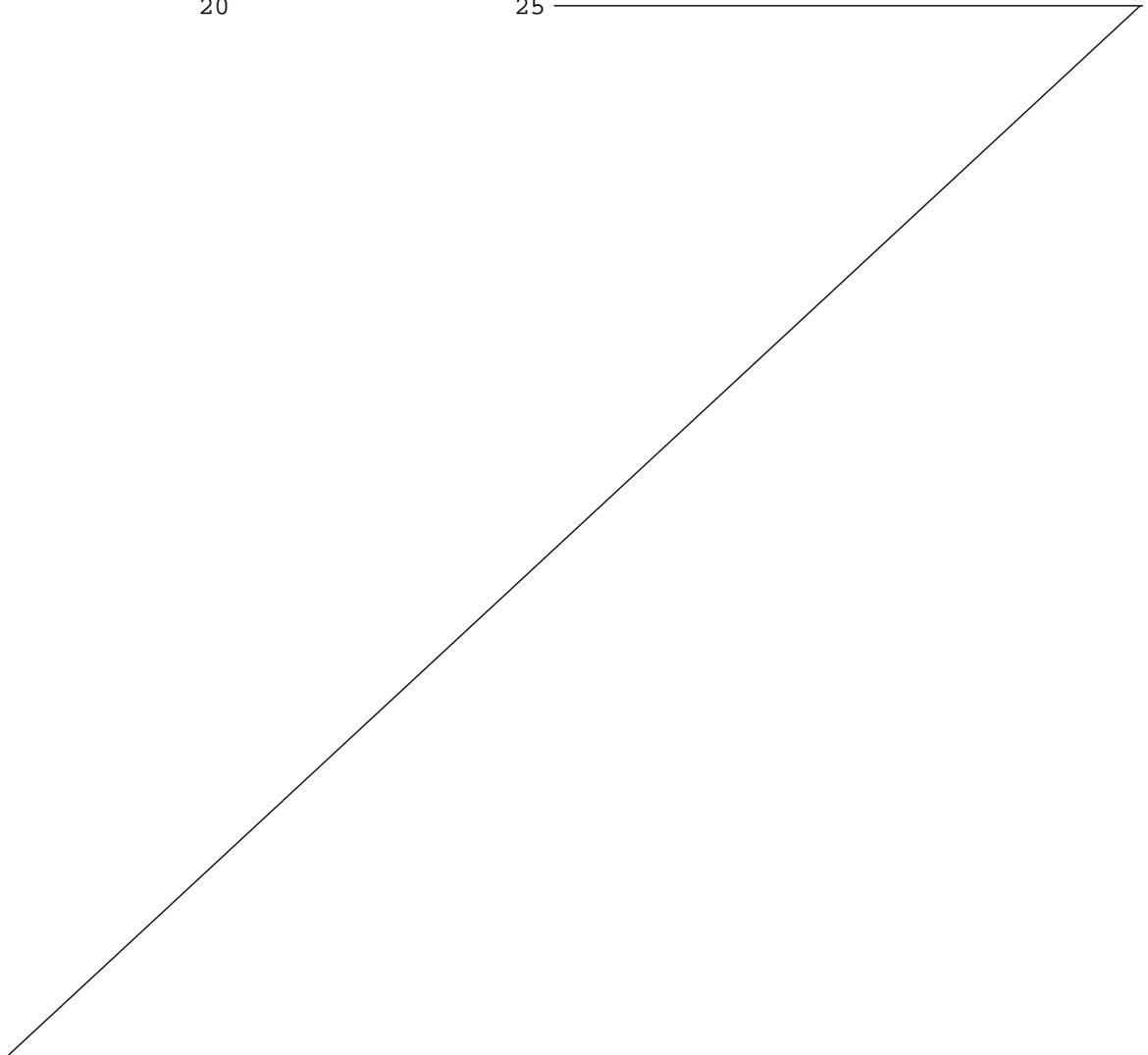
Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25

<210> 19  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 19

Gly Ser Ser Phe Leu Ser Pro Glu His Gln Arg Val Gln Gln Arg Lys  
1 5 10 15

Glu Ser Lys Lys Pro Pro Ala Lys Leu Gln Pro Arg  
20 25



### **RIVENDICAZIONI**

1. Uso di composti agonisti e antagonisti dei recettori per Growth Hormone Secretagogues (GHS), loro sali, loro esteri e loro solvati, a condizione che ghrelin sia escluso, per la preparazione di un medicamento per la prevenzione e il trattamento di convulsioni e di stati epilettici.
2. Uso secondo la rivendicazione 1, in cui i composti sono scelti fra hexarelin, SEQ. ID No: 2, SEQ. ID No: 1, SEQ. ID No: 3, SEQ. ID No: 4, SEQ. ID No: 5, SEQ. ID No: 6, SEQ. ID No: 7, SEQ. ID No: 8, SEQ. ID No: 9, SEQ. ID No: 10, SEQ. ID No: 11, SEQ. ID No: 12, SEQ. ID No: 13, SEQ. ID No: 14, SEQ. ID No: 19, SEQ. ID No: 15, SEQ. ID No: 16, SEQ. ID No: 17, SEQ. ID No: 18, (R)-N-(1-(4-(4-Metossibenzil)-5-fenetil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-(1H-indol-3-il)etil)-2-aminoacetamide.
3. Uso secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui il composto ha la SEQ. ID No: 2.
4. Uso secondo una qualsiasi delle precedenti rivendicazioni, in cui le convulsioni sono convulsioni acute, convulsioni ricorrenti, convulsioni a grappolo di natura epilettica e non epilettica.
5. Uso secondo una qualsiasi delle precedenti rivendicazioni, in cui gli stati epilettici sono crisi motorie associate ad epilessia del lobo temporale.
6. Uso secondo una qualsiasi delle precedenti rivendicazioni, in cui il composto è somministrato in associazione con uno o più anticonvulsivanti e/o antiepilettici.
7. Uso secondo la rivendicazione 6, in cui l'anticonvulsivante e/o l'antiepilettico sono scelti dal gruppo consistente in: diazepam, lorazepam, midazolam, clonazepam, clorazepato, fenobarbital, metilfenobarbital,

hexibarbital, fenitoina, mefenitoina, etotoina, fosfenitoina, trimetadione, fensuccimide, etosuccimide, carbamazepina, primidone, acido valproico, oxcarbazepina, felbamato, gabapentin, lamotrigina, levetiracetam, brivaracetam, lacosamide, tiagabina, zonisamide, topiramato, fenacetamide, vigabatrin, loro sali e loro esteri.

Milano, 28 gennaio 2010