(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **3 081 684**

(21) Número de solicitud: 202530268

(51) Int. CI.:

A61P 25/32 (2006.01)

(12) SOLICITUD DE PATENTE A1

(22) Fecha de presentación:

01.04.2025

(43) Fecha de publicación de la solicitud:

15.10.2026

(71) Solicitantes:

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA (100,00%)
Avenida Cervantes, 2
29071 Málaga (Málaga) ES

(72) Inventor/es:

FLORES GÓMEZ, Marta;
CANTERO GARCÍA, Noelia;
PINEDA GÓMEZ, Juan Pedro;
FLORES BURGESS, Antonio;
DÍAZ CABIALE, Zaida y
MILLÓN PEÑUELA, Carmelo

(74) Agente/Representante:

RUBIO ROMERO, Juan Carlos

Observaciones:

La lista de secuencias está accesible al público en la página web de la OEPM para su descarga en formato electrónico

(54) Título: **GAL(1-15) y antagonistas no selectivos de los receptores mu-opioides para uso en el tratamiento del trastorno por consumo de alcohol (TCA)**

(57) Resumen:

GAL(1-15) y antagonistas no selectivos de los receptores mu-opioides para uso en el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA).

La presente invención describe la Galanina (1-15) en terapia combinada con antagonistas no selectivos de los receptores mu-opioides como la Naltrexona (NTX), la Naloxona y el Nalmefeno para su uso en la prevención y/o el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA), así como su uso no terapéutico en la reducción del consumo de alcohol.

ES 3 081 684 A1

DESCRIPCIÓN

GAL(1-15) y antagonistas no selectivos de los receptores mu-opioides para uso en el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA)

CAMPO DE LA TÉCNICA

La presente invención se encuadra dentro del sector farmacéutico y va destinada al área del tratamiento de trastornos por consumo de alcohol. Concretamente, describe el uso combinado de Galanina (1-15) o análogos de la misma, y de antagonistas no selectivos de los receptores mu-opioides, en la prevención y/o el tratamiento de los trastornos relacionados con el consumo de alcohol. En concreto, la invención está especialmente dirigida a la reducción del consumo de alcohol en general y a la prevención y/o tratamiento de Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA) en particular.

ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

Según la Organización Mundial de la Salud, el consumo de alcohol se considera un factor de riesgo importante y el causante de diversas enfermedades. El consumo de alcohol provoca 3 millones de muertes al año en todo el mundo y es responsable de más del 7 % de los problemas de salud y las muertes prematuras en Europa.

El Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA) es un trastorno psiquiátrico reconocido en el Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DSM) de la Asociación Estadounidense de Psiquiatría, de alta prevalencia y recurrencia crónica que se asocia con el consumo compulsivo de alcohol, la pérdida de control sobre la bebida y la aparición de un estado emocional negativo cuando ya no se dispone de alcohol [**1; 2**].

Aunque algunos medicamentos reducen la ansiedad y el consumo de alcohol, su eficacia es objeto de debate debido a problemas como los efectos secundarios, la dependencia y los efectos variables entre los pacientes. En consecuencia, el uso de las farmacoterapias para el TCA ha sido limitado. Esto pone de manifiesto la necesidad de nuevos tratamientos.

La Naltrexona (NTX), la Naloxona y el Nalmefeno son antagonistas de receptores opioides "no selectivos" en el sentido de que interactúan no sólo con los receptores mu-, sino también con los delta- y Kappa, aunque con menor afinidad en el caso de la Naloxona y la Naltrexona [**3**]. La Naltrexona es uno de los medicamentos más utilizados para el tratamiento del alcoholismo. Este antagonista de los receptores opioides mu, actúa

atenuando la actividad opioidérgica inducida por el alcohol, reduciendo así el consumo de alcohol al modular los efectos gratificantes del alcohol a través del sistema dopaminérgico mesolímbico.

Por otro lado, estudios recientes han demostrado el papel de los neurotransmisores y neuropéptidos endógenos implicados en el abuso de drogas y la adicción, como el neuropéptido Galanina (GAL). GAL se encuentra ampliamente distribuido en las neuronas del sistema nervioso central (SNC) y participa en una serie de funciones centrales que modulan los niveles neuroendocrinos, el control del dolor y las funciones cardiovasculares, además de la ingesta de alimento y los trastornos del estado de ánimo.

GAL y sus receptores están implicados en el consumo de alcohol, tal y como prueban los estudios realizados en ratas donde la administración de GAL aumenta el consumo de etanol [**4**; **5, 6, 7**]. GAL también tiene interacciones antagónicas con el sistema opioide [**8, 9**]; por ejemplo, la administración central de GAL disminuye la preferencia por la morfina en experimentos realizados en roedores. En estudios genéticos, se han encontrado asociaciones entre polimorfismos específicos en el gen GAL y vulnerabilidad en el trastorno por consumo de opioides [**10**]. Estudios recientes han identificado la existencia de heterómeros MOR-GALR1 funcionalmente significativos en el área tegmental ventral (ATV o VAT por sus siglas en inglés) que determinan el grado de activación de las células dopaminérgicas que pueden explicar esta interacción [**11**]. También el circuito de recompensa parece estar implicado en los efectos de GAL que fomentan la toma de alcohol. GAL puede incrementar la liberación de dopamina en el núcleo accumbens (NAc) [**12**], siendo este efecto consistente con la capacidad de GAL para aumentar los efectos de recompensa del alcohol [**13**].

No solo la Galanina, sino también fragmentos terminales de Galanina, como el fragmento 1-15, también denominado GAL(1-15), tienen actividad en el sistema nervioso central, así como un papel esencial en los trastornos del estado de ánimo y las conductas de búsqueda de alcohol, actuando a través de complejos heterorreceptores GALR1-GALR2 [**14, 15**].

Recientemente, se ha demostrado que GAL(1-15) reduce significativamente la preferencia y el consumo de etanol en ratas a través de mecanismos centrales, centrándose en el cuerpo estriado, un área clave para los efectos gratificantes y motivacionales de las drogas, y que este efecto es diferente del mediado por la molécula de GAL completa [**16**]. Además, la administración de GAL(1-15) reduce significativamente la conducta de búsqueda de alcohol en un modelo de autoadministración, así como la recaída inducida por el contexto alcohólico

[**17**] involucrando la vía mesocorticolímbica, una región crítica en los efectos de recompensa de la droga.

La combinación de GAL(1-15) con el antidepresivo escitalopram se ha mostrado eficaz en la reducción de la conducta de búsqueda de alcohol en un modelo operante, siendo una novedosa propuesta terapéutica para el tratamiento de la comorbilidad alcoholismo-depresión [**18**].

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

La presente invención describe el uso de GAL(1-15) como una nueva estrategia de terapia combinada con antagonistas no selectivos de los receptores opioides mu, en concreto, la Naltrexona, la Naloxona o el Nalmefeno, para el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA).

En el presente estudio, se ha analizado el efecto de GAL(1-15) combinado con NTX sobre las conductas de búsqueda de recompensa por alcohol.

Para ello se han realizado pruebas de autoadministración de alcohol en ratas, en las que la administración de GAL(1-15) o NTX careció de efecto en el número de refuerzos de alcohol y el número de presiones activas de la palanca, mientras que la combinación de GAL(1-15) y NTX disminuyó en un 50% el número de refuerzos de alcohol (**Fig. 1A**) y el número de presiones activas de palanca (**Fig. 1B**).

Se han estudiado los receptores implicados en el efecto de GAL(1-15) - NTX utilizando el antagonista de GALR2, M871, el cual bloqueó significativamente la reducción inducida por GAL(1-15)-NTX tanto en el número de refuerzos de la autoadministración de alcohol (**Fig. 2A**) como en las presiones activas de palanca (**Fig. 2B**).

Además, se ha analizado el consumo de alcohol en un modelo voluntario de dos botellas donde GAL (1-15)- NTX indujo una disminución significativa de la ingesta de etanol respecto al control y también respecto a la administración de GAL (1-15) (**Fig. 3A**).

Se ha llevado a cabo la prueba de actividad locomotora precedida de una única inyección intraperitoneal de alcohol donde se observó como la administración de GAL(1-15) o NTX por sí solos no afectaba al aumento de la actividad locomotora inducido por la inyección de alcohol, mientras que la combinación de GAL(1-15) con NTX indujo una reducción sustancial en la distancia total (**Fig. 4A**) y la velocidad media (**Fig. 4B**) eliminando completamente el efecto producido por la inyección de alcohol. Asimismo, la coadministración de GAL(1-15) y

NTX indujo un efecto más fuerte que NTX por sí solo en la reducción del número de Movimientos Estereotipados mediada por el consumo de alcohol, siendo dicha reducción significativa respecto a todas las condiciones tratadas, incluso respecto al grupo vehículo donde no se administró alcohol (**Fig. 5**).

Se realizaron ensayos para observar si se producían cambios en la liberación de dopamina en el estriado tras la coadministración de GAL(1-15) y NTX (**Fig. 6**). La administración de etanol a una dosis de 0.5 g/Kg resultó en un aumento modesto en la concentración de dopamina en el estriado dorsal. Este aumento fue estadísticamente significativo en los grupos GAL(1-15) y NTX. Sin embargo, cuando GAL(1-15) y NTX se administraron juntos, este aumento en dopamina se revirtió, lo que sugiere que la combinación de ambos compuestos redujo el efecto producido por la inyección de alcohol.

Por último, se ha estudiado si la combinación GAL(1-15)+NTX modula la vía mesolímbica analizando mediante RT-qPCR la expresión del ARNm de C-Fos (un marcador de actividad neuronal) así como diferentes marcadores del sistema dopaminérgico (los transportadores de dopamina DAT y VMAT2, los receptores de dopamina D1, D2), del sistema opioide (el receptor opioide Mu- MOR y la pro-opiomelanocortina - POMC) y de los receptores GAL (GALR1, GALR2 y GALR3) en el área tegmental ventral (VTA) (**Fig. 7**), núcleo accumbens (NAc) (**Fig. 8**) e hipotálamo (**Tabla 1**).

Se pudo observar cómo la combinación de GAL(1-15) y NTX produjo un aumento significativo del nivel de ARNm de C-Fos y de la expresión del receptor opioide Mu MOR en comparación con el grupo control tanto en el VTA (**Fig. 7A y 7B**) como en el NAc (**Fig. 8A y 8B**).

Cabe señalar que al NAc (un grupo de neuronas del encéfalo, ubicadas donde el núcleo caudado y la porción anterior del putamen y que confluyen lateralmente con respecto al septo pelúcido) se le atribuye una función importante en el placer, incluyendo la recompensa, así como en la adicción, por lo que se encuentra implicado en el circuito de premio-recompensa. Por su parte el VTA (un grupo de neuronas localizadas cerca de la línea media del piso del mesencéfalo) es el punto de origen donde se encuentran los cuerpos de las células dopaminérgicas del sistema dopaminérgico mesocorticolímbico, por lo que se encuentra ampliamente implicado en el sistema de recompensa natural del cerebro, de gran importancia en la cognición, motivación, orgasmo, dependencia a las drogas, emociones intensas relacionadas con el amor, y varios desórdenes psiquiátricos.

La presente invención describe una nueva terapia combinada para la prevención y/ o el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA), utilizando el compuesto GAL(1-15) en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu.

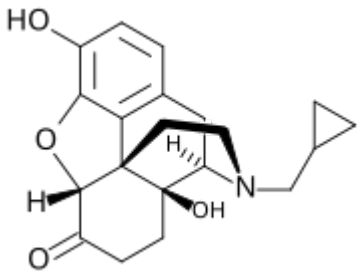
Por tanto, un **primer aspecto de la invención** describe el compuesto GAL(1-15), o un análogo del mismo, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu para su uso en la prevención y/ o el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA).

En la presente memoria se define **GAL(1-15)** como el compuesto con la fórmula general (SEQ ID NO: 1): Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Pro-His-Ala o GWTLNSAGYLLGPHA. También son objeto de la presente invención los análogos de GAL(1-15), o sus sales, ésteres, tautómeros, solvatos e hidratos farmacéuticamente aceptables.

El término "**antagonista no selectivo de los receptores opioides mu (μ)**", (Peripheral Acting Mu Opioid Receptor Antagonists o PAMORA por su denominación y siglas en inglés), se refiere a una serie de antagonistas de opioides de acción central no exclusivos del receptores opioides mu. Existen tres tipos de receptores opioides (mu, delta y kappa) que se encuentran distribuidos por todo el cuerpo y que juegan un papel en funciones como la percepción del dolor, el estado de ánimo y la función gastrointestinal. Entre los antagonistas no selectivo de los receptores opioides mu se incluyen el nalmefeno, la naltrexona y la naloxona, que se utilizan para tratar trastornos por uso de opioides y alcohol y para revertir sobredosis de opioides.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones. Más preferiblemente es Naltrexona.

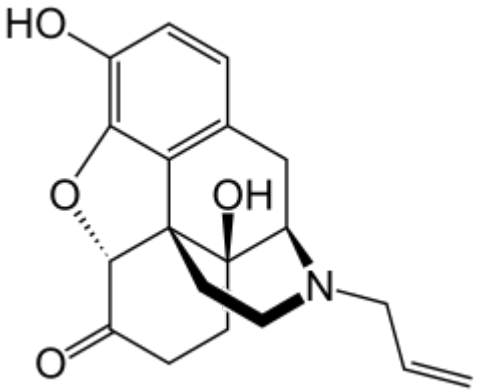
La **naltrexona** o naltraxona, 17-(ciclopropilmetil)-4,5α-epoxi- 3,14-dihidroximorfinan-6-ona, es un fármaco sintético antagonista no selectivo de los receptores opioides mu de fórmula (I):



(I)

La naltrexona es un antagonista de los receptores opioides mu, kappa, delta, sin embargo, tiene 10 veces mayor afinidad en los receptores mu que en los kappa y delta. Sus efectos farmacológicos son mínimos en ausencia de opioides o cuando los sistemas endorfinérgicos están desactivados. Se prescribe en el tratamiento de la dependencia de los opioides (como la codeína, morfina y heroína) y del alcohol. No produce dependencia física o psíquica, ni se ha descrito tolerancia. También se utiliza en la terapia del síndrome de abstinencia al alcohol al reducir el deseo y el consumo de alcohol, mejora la tasa de abstinencia y disminuye las recaídas.

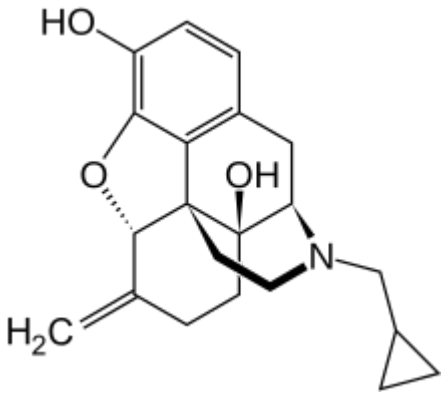
La **naloxona**, 17-allil-4,5α-epoxi-3,14-dihidroximorfinan-6-ona, es un fármaco antagonista no selectivo de los receptores opioides mu de fórmula (II):



(II)

La naloxona es un antagonista puro de los opiáceos sin ninguna actividad agonista. Inhibe competitivamente los narcóticos en los receptores opioides mu, delta y kappa, y revierte y previene los efectos indeseables y/o colaterales de los morfínicos, por lo que es muy usado en el tratamiento de la intoxicación aguda por opiáceos.

El **nalmefeno** es un fármaco antagonista no selectivo de los receptores opioides mu de fórmula (III):



(III)

El nalmefeno (de nombre comercial “Selincro” y originalmente conocido como nalmetreno), es un antagonista de los receptores opioides utilizado principalmente en el tratamiento del alcoholismo. Se trata de un derivado del opio parecido tanto en estructura como en acción a la antagonista opioide naltrexona, aunque con una vida media más prolongada, mejor biodisponibilidad oral y ninguna toxicidad hepática observada. También presenta una mayor afinidad de unión con el receptor opioide mu por la sustitución del grupo cetona por un grupo de metileno (CH_2) en la posición 6 con respecto a la naltrexona.

En el marco de la presente invención, GAL(1-15), o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, así como los antagonistas no selectivos de los receptores opioides mu, entre los que destacan Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, y especialmente Naltrexona, son también denominados como “**compuestos activos**” o “**ingredientes activos**” de la invención. Tal como se utiliza en esta invención, el término "compuesto activo" significa cualquier componente que proporcione potencialmente un efecto farmacológico u otro tipo de efecto en el diagnóstico, cura, paliación, tratamiento o prevención de una enfermedad, o que afecte a la estructura o función del cuerpo humano o del cuerpo de otros animales. El término incluye aquellos componentes que promueven un cambio químico en la fabricación del medicamento y están presentes en él en una forma modificada y prevista para proporcionar una actividad o efecto específico.

Se entiende por "**uso combinado**" la administración de los ingredientes activos de forma asociada entre sí pero no necesariamente de forma simultánea. GAL (1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, y los antagonistas no selectivos de los receptores opioides mu, en concreto Naltrexona, pueden

administrarse simultáneamente como se ha descrito anteriormente. Alternativamente, los ingredientes activos pueden ser administrados secuencialmente, por ejemplo en dos formas de dosificación unitaria individuales.

Para su uso en terapia, GAL(1-15), o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, puede estar en una forma sustancialmente pura o farmacéuticamente aceptable, es decir, con un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable y excluyendo los aditivos farmacéuticos habituales, como diluyentes y vehículos, y sin incluir materiales considerados tóxicos a los niveles de dosificación habituales. Los niveles de pureza del principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, y aún más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, los niveles son superiores al 95% en GAL(1-15) o sus sales.

GAL (1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, puede ser administrada antes, durante o después de la administración del antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, preferiblemente después de la administración del antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, siempre que el tiempo entre la administración de GAL (1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, y la administración del antagonista no selectivo de los receptores opioides mu es tal que se permite que los ingredientes actúen sinérgicamente en el SNC.

Los términos "**prevenir**" y "**prevención**" tal como se utiliza aquí, se refieren a evitar total o parcialmente, o minimizar los efectos adversos o la gravedad de los mismos, de una enfermedad o afección, en este caso, el Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA), antes de su aparición. La reducción de la afectación de la enfermedad en comparación con la progresión de la enfermedad que ocurre en ausencia del tratamiento variará en función de diversos factores y dependerá, entre otros, de la dosis administrada de los ingredientes activos de la invención en su uso combinado o de la composición farmacéutica de la invención, y de la vía de administración.

Los términos "**tratar**" y "**tratamiento**", tal como se utiliza aquí, se refieren a la capacidad de los ingredientes activos de la invención en su uso combinado o de la composición farmacéutica de la invención, para evitar, disminuir o eliminar por completo los efectos en el comportamiento del paciente causados por o derivados del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA).

Tal y como se ha definido previamente, el **Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA)** se refiere a un trastorno adictivo que se caracteriza por la pérdida de control sobre el consumo de esta sustancia, y la persistencia en su consumo a pesar de las repercusiones negativas que genera a la persona que lo padece. Es considerado un trastorno complejo de etiología multifactorial, donde se produce una interacción de factores biológicos, psicológicos y ambientales-sociales. Los cuadros clínicos asociados con más frecuencia a los TCA son la intoxicación etílica y el síndrome de abstinencia, siendo las complicaciones más frecuentes de este último las convulsiones y el *delirium tremens*. Además, se asocia a importantes complicaciones médicas y psiquiátricas. El diagnóstico es fundamentalmente clínico, aunque existen diversas escalas (CAGE, AUDIT) y marcadores biológicos que pueden orientarlo. El Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales (DMS) de la Asociación Estadounidense de Psiquiatría en su versión IV describió dos trastornos distintos asociados al consumo de alcohol, el abuso del alcohol y la dependencia del alcohol, con criterios específicos para cada uno. El DSM–5 integra los dos trastornos del DSM–IV en un único trastorno denominado Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA o AUD, por sus siglas en inglés) con subclasificaciones leves, moderadas y graves.

Un **segundo aspecto** de la invención refiere a una composición que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu para su uso en el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA). Preferiblemente el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones, y en una realización aun más preferida de este aspecto de la invención es la Naltrexona.

En una realización preferida de este aspecto de la invención, la composición de la invención es una composición farmacéutica. Tal como se utiliza en la presente descripción, el término "composición farmacéutica" se refiere a cualquier sustancia utilizada para el diagnóstico, prevención, alivio, tratamiento o curación de una enfermedad en un ser humano o en animales. La composición farmacéutica puede incluir una composición única o composiciones separadas. La composición farmacéutica de la invención puede utilizarse sola o en combinación con otras composiciones farmacéuticas, preferiblemente, que comprenda otro compuesto útil en el tratamiento del TCA, en cuyo caso, también puede incluir una composición única o composiciones separadas. En una realización particular, la composición farmacéutica de la invención comprende además un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que ayuda a la absorción de la composición farmacéutica que comprende la composición de la invención, estabiliza dicha composición farmacéutica o ayuda en la fabricación de la misma en el sentido de darle consistencia, forma, sabor o cualquier otra característica funcional específica. Así, los excipientes podrían tener la función de mantener unidos los ingredientes, como por ejemplo almidones, azúcares o celulosas, una función edulcorante, una función colorante, una función protectora, como por ejemplo aislarla del aire y/o de la humedad, una función de relleno para un comprimido, cápsula o cualquier otra forma de formulación, como por ejemplo fosfato cálcico dibásico, una función desintegradora para facilitar la disolución de los componentes y su absorción, sin excluir otros tipos de excipientes no mencionados en este párrafo.

Un "soporte farmacéuticamente aceptable" (o "farmacológicamente aceptable") se refiere a cualquier sustancia, o combinación de sustancias, conocida en el sector farmacéutico, utilizada en la fabricación de formas farmacéuticas de administración e incluye, entre otros, sólidos, líquidos, disolventes o tensioactivos. El portador puede ser una sustancia inerte o tener una acción similar a cualquiera de los compuestos de la presente invención, teniendo la función de facilitar la incorporación del fármaco, así como de otros compuestos, permitiendo una mejor dosificación y administración o proporcionando consistencia y forma a la composición farmacéutica. Cuando la forma farmacéutica es líquida, el portador es el diluyente. El término "farmacológicamente aceptable" se refiere al hecho de que el compuesto al que se refiere está permitido y evaluado para que no cause daño a los organismos a los que se administra.

La composición farmacéutica de la invención puede administrarse a través de cualquier vía de administración, y como tal, dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. Así, la composición farmacéutica de la invención puede administrarse por vía oral, nasal, ocular, tópica, intradérmica, intracraneal, intravenosa o intraperitoneal. Preferiblemente, se administra por vía oral.

La composición de la invención puede incluir una cantidad eficaz de GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, y de un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, preferiblemente Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones, y aun más preferentemente, Naltrexona. El término "cantidad eficaz" utilizado en el presente documento se refiere a una cantidad suficiente para tratar de forma efectiva el TCA. La cantidad eficaz puede seleccionarse adecuadamente por un experto en la materia en función del individuo

seleccionado y pueden intervenir factores como la edad, las condiciones de salud, la duración de la administración, la vía de administración, la tasa de excreción y otros, incluido el uso de un fármaco en combinación con la composición farmacéutica o al mismo tiempo que ésta, y otros factores conocidos en el campo de la medicina. La terapia se considera "personalizada" cuando el compuesto que se administra al individuo para tratar una enfermedad está especialmente adaptado a las características tanto genotípicas como fenotípicas del individuo que va a ser tratado, evitando así la pérdida de tiempo con terapias no efectivas.

Un **tercer aspecto** de la invención, refiere a un kit que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, preferiblemente Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones, y aun más preferentemente, Naltrexona, o las composiciones según se han descrito en la presente memoria para su uso en el tratamiento de Trastorno por Consumo de Alcohol (TCA). Preferiblemente, el kit está adaptado para la administración simultánea o secuencial de los compuestos activos.

Un **cuarto aspecto** de la invención se refiere a una composición que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable y al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu que se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno o cualquiera de sus combinaciones, preferiblemente Naltrexona.

Un **quinto aspecto** de la invención, refiere al uso no terapéutico de GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, o de una composición o kit que los comprende, para la reducción del consumo de alcohol. Preferentemente, el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones, y aun más preferentemente es Naltrexona.

En el contexto de la presente invención el “**uso no terapéutico**” se define como el uso de los ingredientes activos de la invención en su uso combinado o de la composición de la invención, para la reducción del consumo de alcohol en un contexto no patológico, como medida profiláctica dentro del mantenimiento y la conservación de un buen estado de salud general y hábitos de vida saludables.

El término "paciente", “individuo” o "sujeto", tal como se utiliza en el presente documento, se refiere a un mamífero e incluye, pero no se limita a, animales domésticos y de granja, primates y seres humanos, por ejemplo, seres humanos, primates no humanos, vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, perros, gatos o roedores como ratas y ratones. En una realización preferida, el sujeto es un ser humano.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece esta invención. En la práctica de la presente invención pueden utilizarse métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones, la palabra "comprende" y sus variaciones no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Otros objetos, ventajas y características de la invención resultarán evidentes para los expertos en la materia tras el examen de la descripción o podrán conocerse mediante la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y dibujos se proporcionan a modo de ilustración y no pretenden ser limitativos de la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Figura 1. **Efecto de la administración de Galanina(1-15) [GAL(1-15)] y Naltrexona (NTX) en la prueba de autoadministración de alcohol.** NTX 0,3 mg/Kg o solución salina se administró por vía subcutánea (SC) 30 min antes de la prueba, y GAL(1-15) 0,3 nmol o líquido cefalorraquídeo artificial (aCSF) se administró por vía intracerebroventricular (ICV) 15 min antes de la prueba. Grupos experimentales: solución salina + aCSF (n=8), solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=5), NTX 0,3 mg/Kg + aCSF (n=8), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=7). Las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. **(A)** Número de refuerzos de alcohol *p≤ 0,05 NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol frente a solución salina + aCSF, NTX 0,3 mg/kg + aCSF. **(B)** Número de presiones activas de la palanca *p≤ 0,05 NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol frente al resto de grupos, según ANOVA unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher. **(C)** Presiones de palanca inactivas durante el periodo de prueba. Los datos representan la media ± error estándar de la media. No hay diferencias entre los grupos experimentales según un análisis de varianza unidireccional (ANOVA).

Figura 2. Papel del antagonista de GALR2 M871 en los efectos mediados por GAL(1-15) - NTX en la prueba de autoadministración de alcohol. NTX 0.3 mg/Kg o salino fue administrado SC 30 min antes de la prueba, GAL(1-15) 0.3 nmol, antagonista GALR2 M871

3 nmol o aCSF fue inyectado por ICV 15 min antes de la prueba. Grupos experimentales: solución salina + aCSF (n=9), solución salina + M871 3 nmol (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol + M871 3 nmol (n=7). Las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. **(A)** Número de refuerzos de alcohol *p≤ 0,05 solución salina + aCSF frente a NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol, **p <0,01 frente a solución salina + M871 3 nmol, NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol + M871 3 nmol, según ANOVA unidireccional seguida de la prueba de comparación múltiple de Fisher . **(B)** Número de presiones activas de la palanca *p≤ 0,05 frente a solución salina + M871 3 nmol, NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol + M871 3 nmol**. (C)** Presiones de palanca inactivas durante el periodo de prueba. Los datos representan la media ± error estándar de la media. No hay diferencias según un análisis de varianza unidireccional (ANOVA) entre los grupos experimentales.

Figura 3. Efecto de la combinación de GAL(1-15) y NTX en el paradigma de elección de dos botellas con una concentración de etanol (EtOH) del 10% en ratas. NTX 1 mg/Kg o salino fue administrado SC 30 min antes de la prueba, y GAL(1-15) 1 nmol o aCSF fue administrado ICV 15 min antes de la prueba. Grupos experimentales: solución salina + aCSF (n=8), solución salina + GAL(1-15) 1 nmol (n=6), NTX 1 mg/Kg + aCSF (n=9), NTX 1 mg/Kg + GAL(1-15) 1 nmol (n=7). **(A)** Ingesta de EtOH (g/Kg) 2 horas después de la prueba, las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. *p≤ 0.05 NTX 1 mg/Kg + GAL(1-15) 1 nmol vs solución salina + aCSF, solución salina + GAL(1-15) 1 nmol, según ANOVA unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher. **(B)** Ingesta de agua (g/Kg) 2 horas después de la prueba, las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. **p <0,01 frente a solución salina + aCSF y frente a solución salina + GAL(1-15) 1 nmol, según ANOVA unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher.

Figura 4. Efecto de la combinación de GAL(1-15) - NTX sobre la locomoción reducida por etanol en la prueba de campo abierto (OFT). NTX 0,3 mg/Kg o solución salina se administró por vía SC 30 min antes de la prueba, GAL(1-15) 0,3 nmol o aCSF se administró por vía ICV 15 min antes de la prueba y alcohol (0,5 g/Kg) o solución salina se administró por vía intraperitoneal (IP) 5 min antes de la prueba. Se añadió un grupo experimental de animales basales a los que no se había inyectado alcohol previamente ni habían recibido ningún tratamiento (grupo vehículo). Grupos experimentales: vehículo (n=7), solución salina + aCSF (n=7), solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=7), NTX 0,3 mg/Kg + aCSF (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=6). **(A)** Distancia recorrida (cm) y **(B)** Velocidad media (cm/s) en una prueba de campo abierto durante el periodo de prueba de 5 min. Las

barras verticales representan la media ± error estándar de la media. * p ≤ 0,05, ** p <0,01 vs vehículo, NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol, según ANOVA unidireccional seguido de prueba de comparación múltiple de Fisher.

Figura 5. Efecto de la administración de GAL(1-15) y NTX en el comportamiento estereotípico medido en la jaula doméstica. NTX 0,3 mg/Kg o solución salina se administró SC 30 min antes de la prueba, GAL(1-15) 0,3 nmol o aCSF se administró ICV 15 min antes de la prueba y alcohol (0,5 g/Kg), o solución salina se administró IP 5 min antes de la prueba. Se añadió un grupo experimental de animales basales que no habían consumido alcohol previamente ni recibido ningún tratamiento (grupo Vehículo). Grupos experimentales: Vehículo (n=6), solución salina + aCSF (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + aCSF (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=6). Número de movimientos estereotipados durante el periodo de prueba de 10 min, las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. * p≤ 0,05 NTX 0,3 mg/Kg + aCSF vs NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol; ** p <0,001 vs NTX 0,3 mg/Kg + aCSF; *** p <0,0001 NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol vs vehículo, solución salina + aCSF, según ANOVA unidireccional seguido de prueba de comparación múltiple de Fisher.

Figura 6. Efecto de la administración de GAL(1-15) y NTX en ratas con actividad locomotora sobre el contenido de dopamina estriatal. La concentración de dopamina (pg/ml) se midió 1 h después de la inyección ICV. Se añadió un grupo experimental de animales basales que no habían sido inyectados previamente con alcohol ni habían recibido ningún tratamiento (grupo vehículo). Grupos experimentales: Vehículo (n=6), solución salina + aCSF (n=5), solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=5), NTX 0,3 mg/Kg + aCSF (n=6), NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol (n=5). Concentración de dopamina (pg/ml), las barras verticales representan la media ± error estándar de la media * p≤ 0,05 solución salina GAL(1-15) 0,3 nmol vs vehículo; ** p <0,01 NTX 0,3 mg/Kg + aCSF vs solución salina + aCSF y vs NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol; *** p <0,001 NTX 0,3 mg/Kg + aCSF vs vehículo, según ANOVA unidireccional seguido de prueba de comparación múltiple de Fisher.

Figura 7. Efecto de la administración de GAL(1-15) y NTX sobre la expresión de ARNm de C-Fos, MOR, DAT, VMAT2, D1, D2, D3, GALR1, GALR2 y GALR3 en el área tegmental ventral (VTA). Las medidas se tomaron 1 h después de la inyección ICV. Los grupos experimentales tienen entre 4 y 6 animales por grupo. Las barras verticales representan la media ± error estándar de la media: **(A)** Expresión de ARNm de C-Fos. ** p <0,01 solución salina + aCSF vs NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol, según ANOVA

unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher. **(B)** Expresión de ARNm de MOR. * p≤ 0,05 solución salina + aCSF frente a NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol; solución salina + GAL (1-15) 0,3 nmol frente a NTX 0,3 mg/Kg + aCSF; ** p < 0,01 solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol frente a NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol, según ANOVA unidireccional seguida de prueba de comparación múltiple de Fisher. **(C)** Expresión de ARNm de DAT, VMAT2, D1, D2, D3, GALR1, GALR2 y GALR3, los datos representan la media ± error estándar de la media. No hay diferencias según un análisis de varianza de una vía (ANOVA) entre los grupos experimentales.

Figura 8. Efecto de la administración de GAL(1-15) y NTX sobre la expresión de ARNm de C-Fos, MOR, D1, D2, D3, GALR1, GALR2 y GALR3 en el núcleo accumbens (NAc). Las medidas se tomaron 1 h después de la inyección ICV. Los grupos experimentales tienen entre 5 y 6 animales por grupo. Las barras verticales representan la media ± error estándar de la media. **(A)** Expresión de ARNm de C-Fos. * p≤ 0,05 solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol frente a NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol; ** p <0,01 NTX 0,3 mg/Kg + GAL(1-15) 0,3 nmol frente a solución salina + aCSF, NTX 0,3 mg/Kg + aCSF, según ANOVA unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher. **(B)** Expresión de ARNm de MOR. * p≤ 0.05 NTX 0.3 mg/Kg + GAL(1-15) 0.3 nmol vs solución salina + aCSF, solución salina + GAL(1-15) 0.3 nmol, según ANOVA unidireccional seguido de prueba de comparación múltiple de Fisher. **(C)** Expresión de ARNm de D1, D2, D3, GALR1, GALR2 y GALR3, los datos representan la media ± error estándar de la media de la expresión de ARNm de D1: * p≤ 0,05 frente a solución salina + aCSF, solución salina + GAL(1-15) 0,3 nmol. D2: a p≤ 0,05 vs NTX 0,3 mg/Kg + aCSF; ** p <0,01 vs solución salina + aCSF, según ANOVA unidireccional seguido de la prueba de comparación múltiple de Fisher. GALR1, GALR2, GALR3: No hay diferencias entre el resto de los grupos experimentales según un análisis de varianza unidireccional (ANOVA).

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

Animales

Las ratas macho Sprague-Dawley (225-250 g) se obtuvieron de Criffa y se alojaron en una habitación con humedad y temperatura controladas (20-22°C) en un ciclo inverso de luz/oscuridad de 12 horas (luces apagadas a las 9 am). Todos los experimentos siguieron las Directrices de la Universidad de Málaga para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (Código Ético: 22/05/2017/066). Las ratas fueron asignadas aleatoriamente a los grupos experimentales.

Materiales

La naltrexona se obtuvo de Merck Life Sciencie, Madrid, España. La galanina (1-15) y el antagonista del receptor GALR2 M871 se obtuvieron de Tocris Bioscience, Bristol, Reino Unido.

Diseño experimental

Se llevaron a cabo tres procedimientos experimentales. El esquema de cada diseño experimental se muestra en las **Figuras 1-7.**

Experimento 1: Prueba de autoadministración de alcohol

Se analizó el efecto de la combinación de GAL(1-15) y NTX en la prueba de autoadministración de alcohol (**Fig. 1**) y los receptores GAL implicados en este efecto (**Fig. 2**).

El consumo de alcohol se midió mediante una prueba de autoadministración descrita previamente [**17**]. Las ratas fueron entrenadas para autoadministrarse un 10% de alcohol en sesiones de 30 minutos en un programa Ratio Fijo 1 hasta que se alcanzó una ingesta estable de alcohol. La palanca activa se emparejaba con la entrega de alcohol y un estímulo luminoso condicionado, mientras que la palanca inactiva no proporcionaba recompensa. Durante cada sesión, se registraron las presiones de la palanca activa, las presiones de la palanca inactiva y los refuerzos de alcohol.

Se realizaron dos series de experimentos en la prueba de autoadministración de alcohol. En el primer conjunto de experimentos, grupos de ratas recibieron una inyección subcutánea de NTX 0,3 mg/Kg o solución salina 30 minutos antes del comienzo de la prueba y una inyección intracerebroventricular (ICV) de GAL(1-15) 0,3 nmol o líquido cefalorraquídeo artificial (aCSF) 15 minutos antes de la prueba. Los grupos experimentales tenían entre 5 y 8 animales por grupo.

En la última serie de experimentos, se estudiaron los receptores GAL implicados en el efecto de GAL(1-15); para ello, grupos de ratas recibieron una inyección subcutánea de NTX 0,3 mg/Kg o solución salina 30 minutos antes de la prueba y el antagonista M871 3 nmol, GAL(1-15) 0,3 nmol combinado con el antagonista GALR2 o aCSF 15 minutos antes de la prueba. Los grupos experimentales tenían entre 6 y 11 animales por grupo. El esquema general del diseño experimental se muestra en las **Figuras 1 y 2.**

En la autoadministración de alcohol, la administración de GAL(1-15) a la dosis de 0,3 nmol o NTX 0,3 mg/kg careció de efecto en el número de refuerzos de alcohol y el número de presiones activas de la palanca. Sin embargo, la combinación de GAL(1-15) 0,3 nmol y NTX 0,3 mg/kg disminuyó significativamente el número de refuerzos de alcohol en un 50% (ANOVA unidireccional, $F_{3,24}$=2,86, p= 0,05; **Fig. 1A**) en comparación con los grupos NTX y control (p≤ 0.05) y el número de presiones activas de palanca en un 50% (ANOVA unidireccional, $F_{3,24}$=2.98, p= 0.05; **Fig. 1B**) en comparación con el resto de los grupos (p≤ 0.05). Sin embargo, la combinación de GAL(1-15) y NTX no afectó al número de presiones de palanca inactivas en la prueba de autoadministración de alcohol (**Fig. 1C**).

Por tanto, **la combinación de GAL(1-15) y NTX en la prueba de autoadministración de alcohol disminuyó los refuerzos de alcohol.**

El antagonista de GALR2 M871 inyectado solo a la dosis de 3 nmol careció de efectos en el número de refuerzos de la autoadministración de alcohol (**Fig. 2A**) y las presiones activas de palanca (**Fig. 2B**). Sin embargo, el antagonista GALR2 M871 3 nmol bloqueó significativamente la reducción inducida por GAL(1-15)-NTX (ANOVA unidireccional, $F_{3,24}$= 3,9, p=0,02) en el número de refuerzos de la autoadministración de alcohol (p <0,01) y las presiones activas de palanca (ANOVA unidireccional, $F_{3,24}$= 3,4, p=0,04; p≤ 0,05). No se observaron diferencias significativas entre los grupos experimentales en la palanca activa e inactiva (**Fig. 2C**).

Por tanto, **el antagonista de GALR2 M871 bloqueó el efecto mediado por GAL(1-15).**

Así pues, se concluye que **la combinación de GAL(1-15) y NTX redujo sustancialmente el comportamiento de búsqueda de alcohol en la prueba de autoadministración de alcohol** y que GALR2 está implicado en el efecto mediado por GAL(1-15)-NTX sobre el comportamiento de búsqueda de alcohol.

Experimento 2: Paradigma de elección de dos botellas

Se analizó el efecto de la combinación GAL(1-15) y NTX sobre el consumo voluntario de etanol utilizando la prueba de elección de dos botellas [**19**]. Las ratas tuvieron acceso continuo a una solución de etanol al 10% como único líquido durante tres días. Tras esta exposición forzada, se les dio a elegir entre etanol al 10% y agua durante cuatro días, cambiando diariamente la posición de las botellas para evitar sesgos. Se calculó la ingesta de agua y etanol (g/kg) y la preferencia por el etanol (%). La evaporación y los derrames se contabilizaron utilizando jaulas de control con botellas de agua y etanol.

Los grupos de ratas recibieron una inyección subcutánea de NTX 1 mg/Kg o solución salina 30 minutos antes del inicio del ensayo y una inyección ICV de GAL(1-15) 1 nmol o aCSF 15 minutos antes del ensayo [**16**]. Los grupos experimentales tenían entre 6 y 9 animales por grupo. El esquema general del diseño experimental se muestra en la **Figura 3.**

La coadministración de GAL(1-15) 1 nmol y NTX 1 mg/Kg produjo una disminución significativa del 50% en la ingesta de etanol a las 2 horas de su administración (ANOVA unidireccional, $F_{3,26}$ = 3,18, p=0,04; **Fig. 3A**) en comparación con el grupo control (p≤ 0,05).

En cuanto a la ingesta de agua, la administración de NTX a una dosis de 1 mg/kg redujo significativamente el consumo de agua a las 2 horas en comparación con el grupo control (ANOVA unidireccional, $F_{3,26}$=6,58; p=0,002; **Fig. 3B**). El análisis post-hoc reveló que esta reducción era estadísticamente significativa (p <0,01). Además, cuando GAL(1-15) se combinó con NTX, la reducción en la ingesta de agua se mantuvo a un nivel similar (p <0,01). Este efecto de la NTX respecto a la reducción del consumo de agua había sido descrito previamente [**20**] y se mantiene en la administración combinada con GAL (1-15).

Así pues, se concluye que **GAL(1-15)- NTX indujo una disminución significativa de la ingesta de etanol en la prueba de elección de dos botellas,** un modelo de consumo voluntario de alcohol.

Experimento 3: Actividad locomotora y comportamientos estereotipados

Se investigaron los efectos de la combinación de GAL(1-15) y NTX sobre la locomoción inducida por etanol. La actividad locomotora se registró en campo abierto (100 × 100 × 50 cm), donde se colocaron los animales individualmente y se les permitió explorar libremente. Su comportamiento fue grabado durante 5 minutos por una cámara de vídeo montada en el techo, y la actividad locomotora se analizó utilizando el software de seguimiento de vídeo Ethovision XT (Noldus, S.L).

Después de cada ensayo, se limpiaron todas las superficies con una toalla de papel y una solución de etanol al 70%. Se registraron la distancia total recorrida (cm) y la velocidad media (cm/s) para la actividad locomotora.

Grupos de ratas recibieron una inyección subcutánea de NTX (0,3 mg/kg) o solución salina 30 minutos antes de la prueba, una inyección ICV de GAL(1-15) (0,3 nmol) o aCSF 15 minutos antes, y una inyección intraperitoneal (IP) de etanol (0,5 g/kg) o solución salina 5 minutos antes. También se incluyó un grupo de control de ratas sin alcohol y sin tratamiento. Cada grupo tenía 6-7 animales (véase la **Figura 4** para el diseño experimental).

Además, se registraron comportamientos estereotipados (por ejemplo, encabritarse, acicalarse) en la jaula durante 10 minutos y fueron observados por evaluadores entrenados. El esquema general del diseño experimental se muestra en la **Figura 5.**

En la prueba de campo abierto, la administración IP de etanol 0,5 g/Kg aumentó significativamente la Distancia Total en un 50% (ANOVA unidireccional, $F_{4,28}$=5,15, p=0,003; **Fig. 4A**) y la Velocidad Media en un 50% (ANOVA unidireccional, $F_{4,28}$ =5,10 p=0,003; **Fig. 4B**) en comparación con las ratas sin inyección de alcohol (grupo vehículo) 5 minutos después de su administración (p <0,01).

La administración de GAL(1-15) 0,3 mg/Kg o NTX 0,3 mg/Kg solos no afectó al aumento de la actividad locomotora inducido por la inyección de alcohol, manteniendo el aumento de la Distancia Total recorrida y la Velocidad Media en comparación con el grupo vehículo. Sin embargo, la combinación de GAL(1-15) con NTX indujo una reducción sustancial en la Distancia Total (ANOVA unidireccional, $F_{(4,28)}$=5,15, p=0,003; **Fig. 4A**) y la Velocidad Media (ANOVA unidireccional, $F_{4,28}$ =5,10 p=0,003; **Fig. 4B**) en comparación con el grupo NTX (p≤ 0,05) y GAL(1-15) y los grupos control (p <0,01) eliminando completamente el efecto producido por la inyección de alcohol.

También se evaluaron los efectos de la combinación GAL(1-15)-NTX en el comportamiento estereotipado tras la inyección de 0,5 g/Kg de alcohol (**Fig. 5**). En la conducta de evaluación a los 10 minutos, la administración de NTX 0,3 mg/Kg indujo una reducción significativa del número de Movimientos Estereotipados (ANOVA unidireccional, $F_{3,20}$=9,78, p=0,0004), en comparación con el grupo control (p <0,01) (**Fig.5**). Sin embargo, la coadministración de GAL(1-15) 0.3 nmol y NTX 0.3 mg/Kg indujo un efecto más fuerte, reduciendo significativamente el número de Movimientos Estereotipados, comparado con el grupo NTX inyectado solo (p≤ 0.05) y el grupo control (p <0.001) (**Fig. 5**). Además, el grupo GAL(1-15)-NTX redujo significativamente los Movimientos Estereotipados en comparación con el grupo sin inyección de alcohol (Vehículo) (p <0,001) (**Fig. 5**).

Por tanto, **la combinación GAL(1-15)- NTX disminuyó la actividad locomotora en ratas con inyección intraperitoneal de alcohol.**

Ensayo de dopamina

Se analizó la concentración de dopamina en el estriado dorsal en las ratas procedentes de los procedimientos de actividad locomotora del experimento 3. Las ratas fueron decapitadas 1 hora después de la administración ICV de GAL(1-15) 0,3 nmol o aCSF, y luego se les

extrajo el cerebro, se congeló en isopentano a -40°C y se almacenó en un congelador hasta su uso. Las disecciones de los núcleos se realizaron según lo descrito [**17**] con modificaciones . Se añadió un grupo experimental de animales basales que no habían consumido alcohol previamente y no habían recibido ningún tratamiento. Los grupos experimentales tenían entre 5 y 6 animales por grupo.

El ensayo de dopamina se realizó siguiendo el procedimiento recomendado para el kit de ensayo inmunoenzimático (ELISA) de dopamina (Nº de catálogo: E-EL-0046, Elabscience Biotechnology Co., Ltd., Wuhan, China).

La administración de etanol a una dosis de 0,5 g/kg produjo un modesto aumento de la concentración de dopamina en el estriado dorsal (ANOVA unidireccional, $F_{4,22}$= 7,01, p = 0,0008; **Fig. 6**). Este incremento fue estadísticamente significativo tanto en el grupo GAL(1-15) (p≤ 0.05) como en el NTX (p <0.001). Sin embargo, cuando GAL(1-15) y NTX se administraron conjuntamente, este aumento de dopamina se revirtió, lo que sugiere que la combinación de ambos compuestos redujo el efecto producido por la inyección de alcohol.

Por tanto, **la combinación de GAL(1-15)-NTX redujo la liberación de dopamina en el estriado dorsal tras una inyección de alcohol.**

Efecto de la combinación de GAL(1-15) y NTX sobre la expresión génica en área tegmental ventral (VTA), núcleo accumbens (NAc) e Hipotálamo tras una inyección de alcohol

Las ratas de los procedimientos de actividad locomotora del experimento 3 fueron eutanasiadas por decapitación 1 hora después de la administración ICV de GAL(1- 15) 0,3 nmol o aCSF. Los cerebros se extrajeron rápidamente y se congelaron hasta su uso. Los grupos experimentales tenían entre 4 y 6 animales por grupo.

Las disecciones de los núcleos se realizaron según lo descrito [**17**] con modificaciones.

El procedimiento de aislamiento de ARN y RT-PCR se describió previamente [**17**], así como las secuencias de cebadores utilizadas para evaluar los niveles de expresión de ARNm de los genes C-Fos, MOR, DAT, VMAT2, D1, D2, D3, GALR1, GALR2, GALR3 y POMC.

El esquema general del diseño experimental se muestra en las **Figuras 7 y 8.**

Como se muestra en la **Figura 7**, en el VTA, la administración de GAL(1-15) 0,3 nmol o NTX 0,3 mg/Kg por sí sola no afectó a la expresión de C-Fos (un marcador de actividad neuronal) en animales tras una inyección de etanol de 0,5 mg/Kg. Sin embargo, la combinación de

GAL(1-15) y NTX produjo un aumento significativo del nivel de ARNm de C-Fos (ANOVA unidireccional, $F_{3,16}$=3,33, p=0,046; **Fig. 7A**) en comparación con el grupo control una hora después de su administración (p <0,01).

Del mismo modo, sólo el grupo tratado con la combinación de GAL(1-15)-NTX, y no los grupos tratados con GAL(1-15) o NTX solos, indujeron un aumento significativo de la expresión del receptor opioide Mu MOR (ANOVA unidireccional, $F_{3,15}$= 3,90, p=0,031; **Fig. 7B**), en comparación con el grupo de control en el VTA (p≤ 0,05).

Por tanto, la combinación de GAL(1-15) y NTX aumentó la expresión génica de C-Fos y MOR en área tegmental ventral (ATV)

Además, se estudiaron los niveles de expresión de ARNm para los transportadores de dopamina DAT y VMAT2, los receptores de dopamina D1, D2 y D3, así como los receptores de galanina GALR1, GALR2 y GALR3, todos ellos elementos del sistema Dopaminérgico, y no se encontraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos (**Fig. 7C**).

Se analizó la expresión de ARNm de C-Fos, receptor opioide Mu (MOR), receptores dopaminérgicos D1 y D2, y receptores de galanina GALR1, GALR2 y GALR3 en el núcleo accumbens (NAc).

Como se observa en la **Figura 8**, la coadministración de GAL(1-15) 0,3 nmol y NTX 0,3 mg/Kg produjo un aumento significativo de la expresión de C-Fos (ANOVA unidireccional, $F_{3,19}$= 5,03, p=0,0098; **Fig. 8A**), en comparación con el grupo control (p <0,01), mientras que la única inyección intracerebroventricular (ICV) de GAL(1-15) 0,3 nmol o NTX 0,3 mg/Kg no afectó al nivel de ARNm de C-Fos una hora después de la administración.

En la expresión del ARNm del MOR, de nuevo sólo la combinación de GAL(1-15)-NTX indujo un aumento de la expresión del MOR (ANOVA unidireccional, $F_{3,19}$= 3,37, p=0,0403; **Fig. 8B**) en comparación con el grupo control (p≤ 0,05). La administración de GAL(1-15) o NTX solos no modificó la expresión MOR.

En los niveles de ARNm de los receptores dopaminérgicos, la expresión del receptor D1 aumentó significativamente en las ratas inyectadas con GAL(1-15)-NTX (ANOVA unidireccional, $F_{3,18}$= 3,76, p=0,0296; **Fig. 8C**), en comparación con el grupo control (p≤ 0,05), mientras que en el resto de grupos no se vio afectada a la expresión de D1, lo que indica que el tratamiento con GAL(1-15)-NTX modifica algunos elementos del sistema Dopaminérgico.

En el receptor D2, la administración de NTX 0,3 mg/Kg produjo un aumento de los niveles de ARNm (ANOVA unidireccional, $F_{3,19}$=4,15, p=0,202; **Fig. 8C**), en comparación con el grupo control (p <0,01) y el grupo GAL(1-15) 0,3 nmol (p≤ 0,05), pero no se encontraron diferencias con el grupo GAL(1-15)-NTX..

Por último, en el análisis de la expresión de los receptores de galanina, la expresión de GALR1, GALR2 o GALR3 no se vio modificada por ningún tratamiento.

Por tanto**, la combinación de GAL(1-15) y NTX incrementó la expresión génica de C-Fos, MOR y receptores D1 en el NAc.**

En cuanto a los efectos de la combinación de GAL(1-15)-NTX en la expresión de mARN en el hipotálamo, en la **Tabla 1** se muestran los resultados de las medidas de los de expresión de ARNm de C-Fos, MOR y POMC en el hipotálamo.

Tabla 1: Efecto de la administración de GAL(1-15), NTX o GAL(1-15)-NTX en los niveles de expresión de ARNm de C-Fos, MOR y POMC en el hipotálamo tras la inyección de etanol.

	Salino + aCSF	**Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol**	**NTX 0,3mg/kg + aCSF**	**NTX 0,3mg/kg GAL (1-15) 0,3 nmol**
C-Fos	0,6±0,1	0,7±0,1^{aa}	1,7±0,3**	1,3±0,2*
MOR	0,9±0,2	1,0±0,3	1,3±0,4	0,9±0,1
POMC	0,8±0,1	0,8±0,1	1,7±0,5	1,0±0,2

Como se muestra en la **Tabla 1**, la administración de NTX 0,3 mg/Kg sola (ANOVA unidireccional, $F_{3,17}$= 5,72 p=0,0068; p <0,01) y la coadministración GAL(1-15)-NTX (p≤ 0,05) produjeron un aumento de la expresión de C-Fos en comparación con el grupo control en los animales tras la inyección de etanol 0,5 mg/Kg. La administración de GAL(1-15) 0,3 nmol no modificó la expresión de C-Fos. La expresión de MOR o POMC no fue modificada por ningún tratamiento en el hipotálamo.

Se llevó a cabo el análisis del área hipotalámica dado que en esta zona se producen los ligandos endógenos del sistema opioide, que en el caso del receptor MOR es fundamentalmente la Beta-Endorfina. Por su parte, el gen POMC es el gen del que provienen, entre otras moléculas, las Beta-endorfinas. La ausencia de diferencias en el gen POMC y en la activación de esta zona (C-Fos) por la coadministración GAL(1-15)-NTX de

forma específica sugiere que no se altera el sistema opioide endógeno a este nivel, por lo que principalmente son otros núcleos los involucrados en el efecto del tratamiento combinado.

Las medidas se tomaron una hora después de la inyección ICV. Los grupos experimentales tienen entre 5 y 6 animales por grupo. Los datos representan la media ± error estándar de la media de la expresión de ARNm de C-Fos: * p ≤0,05 vs solución salina + aCSF; ** p <0,01 vs solución salina + aCSF; ^{aa} p <0,01 vs NTX 0,3 mg/Kg + aCSF, según ANOVA unidireccional seguido de prueba de comparación múltiple de Fisher. MOR y POMC: No hay diferencias según un análisis de varianza de una vía (ANOVA) entre los grupos experimentales.

Analisis estadístico y de datos

Los datos se presentan como la media ± error estándar de la media. Todos los datos se analizaron con GraphPad PRISM 9.0 (GraphPad Software, San Diego, CA, EE.UU.). Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA) de una vía para comparar más de dos grupos. La prueba posterior de comparación de la diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher se realizó sólo cuando el cociente F en el ANOVA de una vía era estadísticamente significativo. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas a p ≤0,05 (*p < 0,05, **p <0,01, ***p <0,001).

Referencias

1. Grant BF, Goldstein RB, Saha TD, Chou SP, Jung J, Zhang H, Pickering RP, Ruan WJ, Smith SM, Huang B, Hasin DS. Epidemiology of DSM-5 Alcohol Use Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions III. JAMA Psychiatry. 2015 Aug;72(8):757-66. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.0584. PMID: 26039070; PMCID: PMC5240584.

2. Koob GF, Volkow ND. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. Lancet Psychiatry. 2016 Aug;3(8):760-773. doi: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8. PMID: 27475769; PMCID: PMC6135092.

3. Schultz W, Dayan P, Montague PR. A neural substrate of prediction and reward. Science. 1997 Mar 14;275(5306):1593-9. doi: 10.1126/science.275.5306.1593. PMID: 9054347.

4. Lewis MJ, Johnson DF, Waldman D, Leibowitz SF, Hoebel BG (2004). Galanin microinjection in the third ventricle increases voluntary ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 28: 1822-1828

5. Rada P, Avena NM, Leibowitz SF, Hoebel BG (2004). Ethanol intake is increased by 30 injection of galanin in the paraventricular nucleus and reduced by a galanin antagonist. *Alcohol* 33: 91-97

6. Schneider ER, Rada P, Darby RD, Leibowitz SF, Hoebel BG (2007). Orexigenic peptides and alcohol intake: differential effects of orexin, galanin, and ghrelin. *Alcohol Clin Exp Res* 31: 1858-1865.

7. Marcinkiewcz CA, Lowery-Gionta EG, Kash TL (2016). Serotonin's Complex Role in Alcoholism: Implications for Treatment and Future Research. *Alcohol Clin Exp Res* 40: 1192-1201.

8. Picciotto MR (2008). Galanin and addiction. *Cell Mol Life Sci* 65: 1872-1879.

9. Holmes FE, Armenaki A, Iismaa TP, Einstein EB, Shine J, Picciotto MR, Wynick D, Zachariou V. Galanin negatively modulates opiate withdrawal via galanin receptor 1. Psychopharmacology (Berl). 2012 Apr;220(3):619-25. doi: 10.1007/s00213-011-2515-x. Epub 2011 Oct 4.

10. Cai NS, Quiroz C, Bonaventura J, Bonifazi A, Cole TO, Purks J, Billing AS, Massey E, Wagner M, Wish ED, Guitart X, Rea W, Lam S, Moreno E, Casadó-Anguera V, Greenblatt AD, Jacobson AE, Rice KC, Casadó V, Newman AH, Winkelman JW, Michaelides M, Weintraub E, Volkow ND, Belcher AM, Ferré S. Opioid-galanin receptor heteromers mediate the dopaminergic effects of opioids. J Clin Invest. 2019 Mar 26;129(7):2730-2744. doi: 10.1172/JCI126912.

11. Moreno E, Quiroz C, Rea W, Cai NS, Mallol J, Cortés A, Lluís C, Canela EI, Casadó V, Ferré S. Functional μ-Opioid-Galanin Receptor Heteromers in the Ventral Tegmental Area. J Neurosci. 2017 Feb 1;37(5):1176-1186. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2442-16.2016.

12. Rada P, Mark GP, Hoebel BG (1998). Galanin in the hypothalamus raises dopamine and lowers acetylcholine release in the nucleus accumbens: a possible mechanism for hypothalamic initiation of feeding behavior. *Brain Res* 798: 1-6

13. Picciotto MR, Brabant C, Einstein EB, Kamens HM, Neugebauer NM (2010). Effects of galanin on monoaminergic systems and HPA axis: Potential mechanisms underlying the effects of galanin on addiction- and stress-related behaviors. *Brain Res* 1314: 206-218.

14. Millón C, Flores-Burgess A, Narváez M, Borroto-Escuela DO, Santín L, Parrado C, Narváez JA, Fuxe K, Díaz-Cabiale Z. A role for galanin N-terminal fragment (1-15) in anxiety- and depression-related behaviors in rats. Int J Neuropsychopharmacol. 2014 Oct 31;18(3):pyu064. doi: 10.1093/ijnp/pyu064. PMID: 25522404; PMCID: PMC4360234.

15. Borroto-Escuela DO, Romero-Fernandez W, Mudo G, Perez-Alea M, Ciruela F, Tarakanov AO*, et al.* (2012). Fibroblast growth factor receptor 1- 5-hydroxytryptamine 1A heteroreceptor complexes and their enhancement of hippocampal plasticity. *Biol Psychiatry* 71: 84-91

16. Millón, C.; Flores-Burgess, A.; Castilla-Ortega, E.; Gago, B.; García-Fernandez, M.; Serrano, A.; Rodriguez de Fonseca, F.; Narváez, J.A.; Fuxe, K.; Santín, L.; et al. Central administration of galanin N-terminal fragment 1-15 decreases the voluntary alcohol intake in rats. Addict. Biol. 2019, 24, 76–87.

17. Cantero-García, N.; Flores-Burgess, A.; Pineda-Gómez, J.P.; Orio, L.; Serrano, A.; Díaz-Cabiale, Z.; Millón, C. Galanin N-terminal fragment (1-15) reduces alcohol seeking and alcohol relapse in rats: Involvement of mesocorticolimbic system. Biomed. Pharmacother., 2022, 153, 113508.

18. Cantero-García, N.; Flores-Burgess, A.; Ladrón de Guevara-Miranda, D.; Serrano, A.; García-Durán, L.; Puigcerver, A.; Fuxe, K.; Narváez, J.Á.; Santín, L.J.; Díaz-Cabiale, Z.; Millón, C. The combination of Galanin(1-15) and escitalopram in rats suggests a new strategy for alcohol use disorder comorbidity with depression. Biomedicines, 2022, 10(2), 412.

19. McCool BA, Chappell AM. Early social isolation in male Long-Evans rats alters both appetitive and consummatory behaviors expressed during operant ethanol self-administration. Alcohol Clin Exp Res. 2009 Feb;33(2):273-82. doi: 10.1111/j.1530-0277.2008.00830.

20. Frenk H., Rosen J.B,Suppressant effects of naltrexone on water intake in rats, Pharmacology Biochemistry and Behavior, 1979, Volume 11, Issue 4, 387-390, https://doi.org/10.1016/0091-3057(79)90112-6.

REIVINDICACIONES

1. GAL(1-15), con fórmula general Gly-Trp-Thr-Leu-Asn-Ser-Ala-Gly-Tyr-Leu-Leu-Gly-Pro-His-Ala o GWTLNSAGYLLGPHA, o un análogo de la misma o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en terapia combinada con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, para su uso en el tratamiento y/o prevención del Trastorno por Consumo de Alcohol.

2. GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en terapia combinada con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, para su uso según la reivindicación 1, donde el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones.

3. GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en terapia combinada con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu para su uso según la reivindicación anterior donde el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu es Naltrexona.

4. Composición que comprende los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para su uso en el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol.

5. Composición para su uso según la reivindicación anterior caracterizada por que es una composición farmacéutica.

6. Kit que comprende los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o las composiciones según cualquiera de las reivindicaciones 4 a 5 para su uso en el tratamiento del Trastorno por Consumo de Alcohol.

7. Kit para su uso según la reivindicación anterior caracterizado por que está adaptado para la administración simultánea o secuencial de los compuestos activos.

8. Composición que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable y al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu que se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno o cualquiera de sus combinaciones.

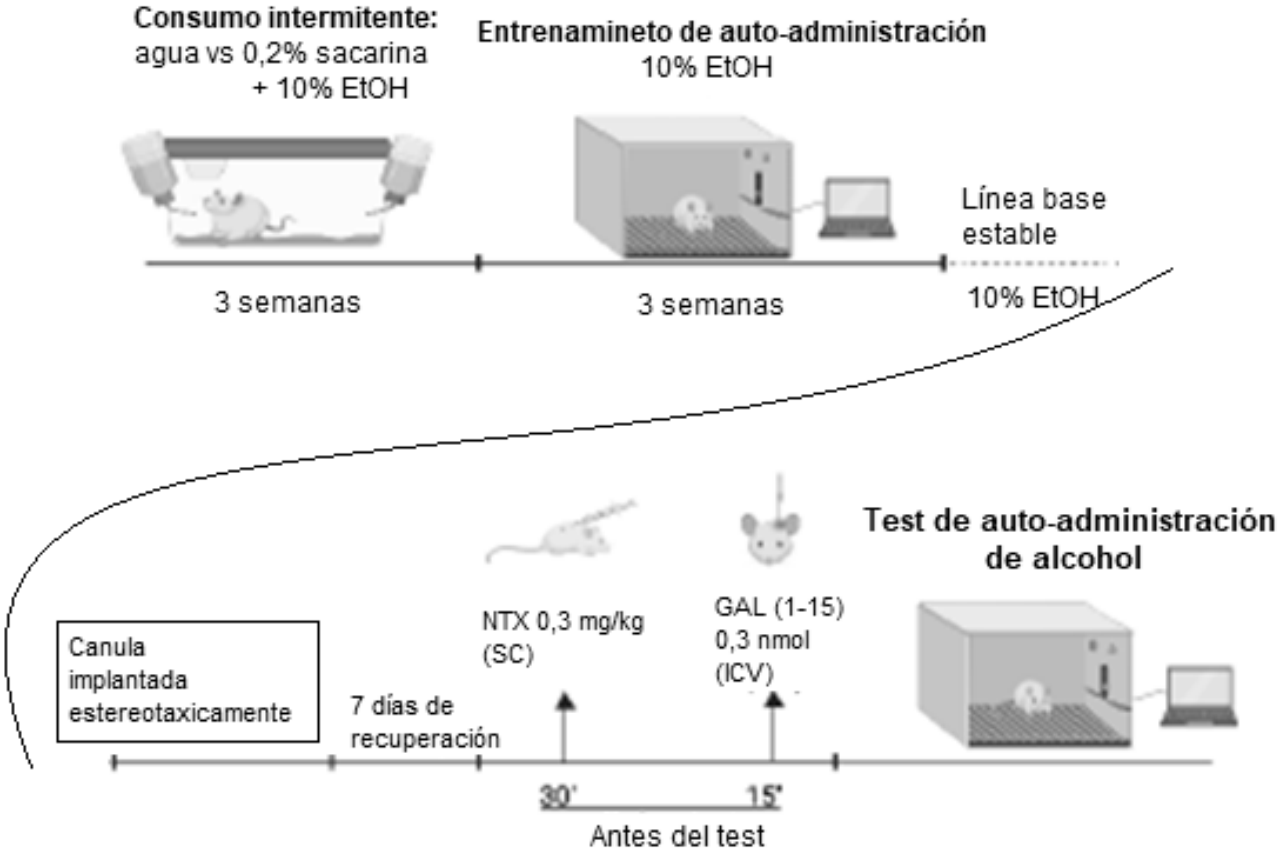
9. Composición que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable y Naltrexona.

10. Composición que comprende GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable y Naltrexona para su uso como medicamento.

11. Uso no terapéutico de GAL(1-15) o un análogo de la misma, o su sal, éster, tautómero, solvato o hidrato farmacéuticamente aceptable, en combinación con al menos un antagonista no selectivo de los receptores opioides mu, o de una composición o kit que los comprende, para la reducción del consumo de alcohol.

12. El uso no terapéutico según la reivindicación anterior donde el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu se selecciona entre Naltrexona, Naloxona, Nalmefeno, o cualquiera de sus combinaciones.

13. El uso no terapéutico según la reivindicación anterior donde el antagonista no selectivo de los receptores opioides mu es Naltrexona.


Consumo intermitente:
agua vs 0,2% sacarina
+ 10% EtOH
Entrenamineto de auto-administración
10% EtOH
Línea base
estable
3 semanas
3 semanas
10% EtOH
Test de auto-administración
de alcohol
Canula
implantada
estereotaxicamente
7 días de
recuperación
NTX 0,3 mg/kg
(SC)
GAL (1-15)
0,3 nmol
(ICV)
30'
15'
Antes del test

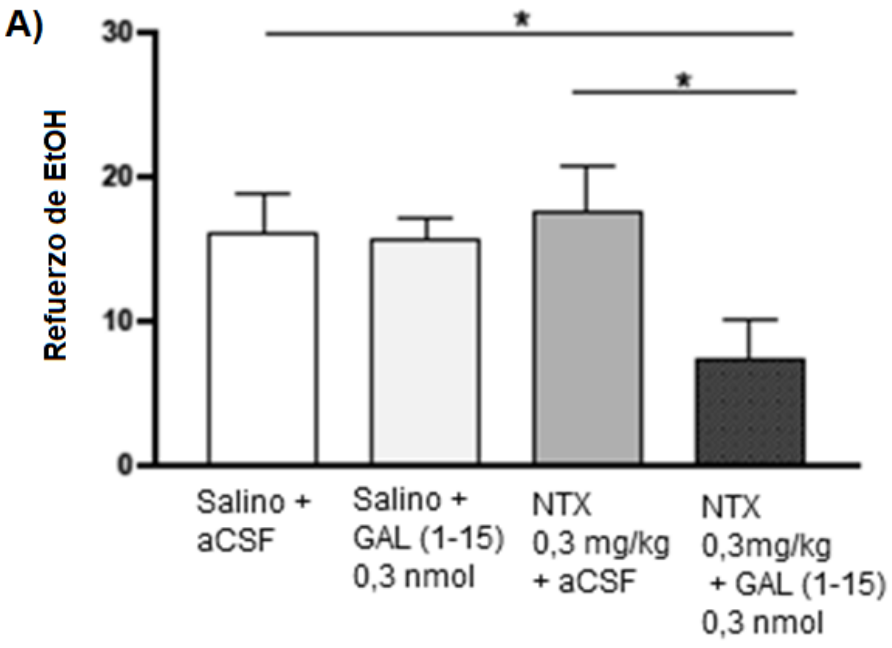
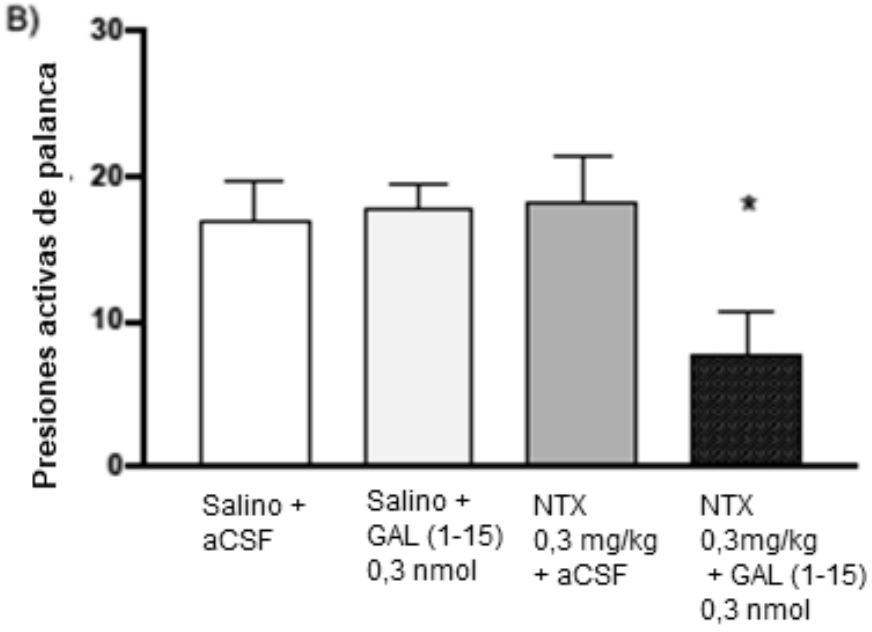

A)
Refuerzo de EtOH
30
20
10
0
*
*
Salino +
aCSF
Salino +
GAL (1-15)
0,3 nmol
NTX
0,3 mg/kg
+ aCSF
NTX
0,3mg/kg
+ GAL (1-15)
0,3 nmol

FIG. 1

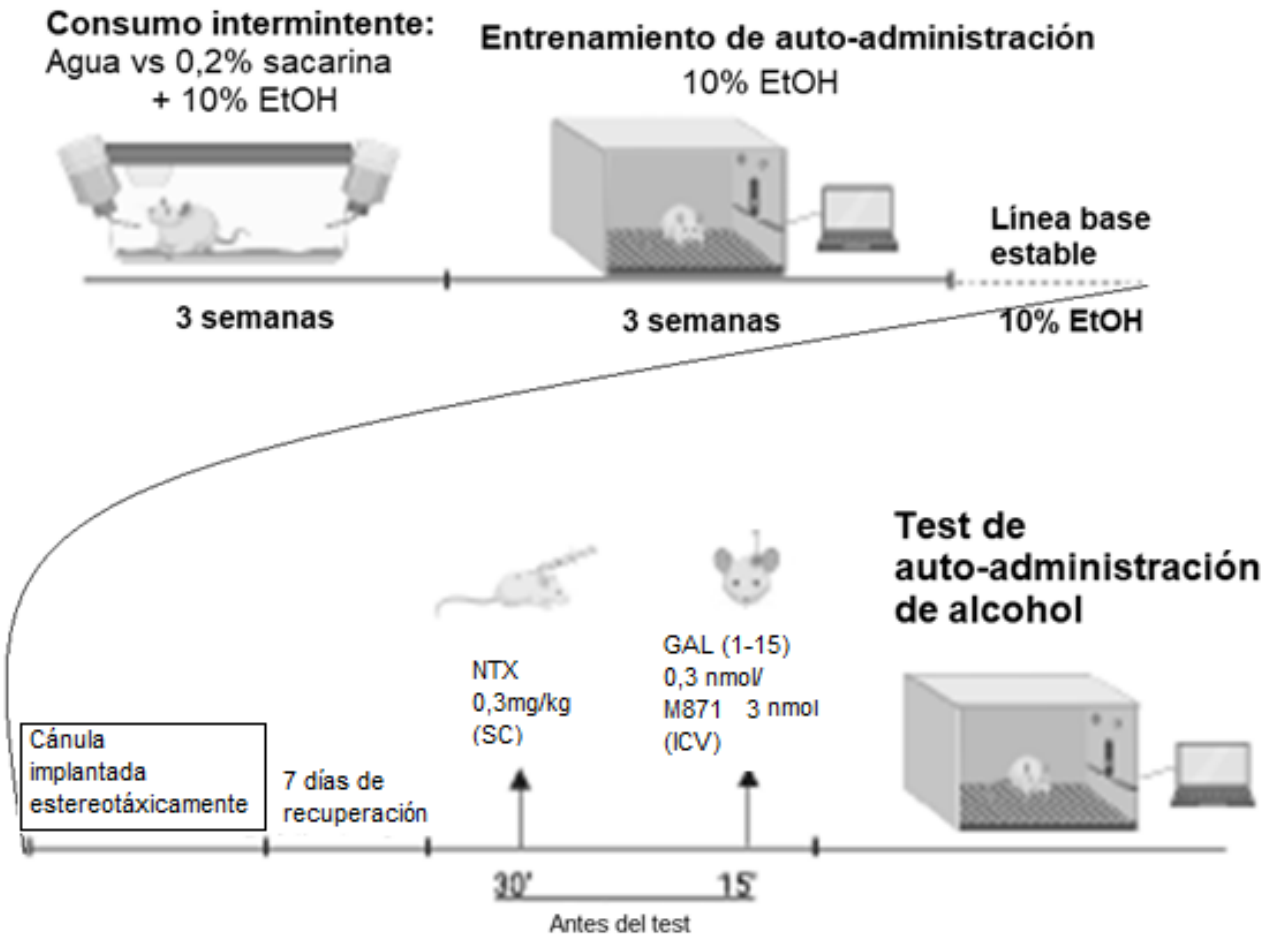
B)



C)

Tratamiento	Presiones de palanca inactiva
Salino + aCSF	0,8 ± 0,5
Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol	0,2 ± 0,2
NTX 0,3 mg/kg + aCSF	0,5 ± 0,3
NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol	0,0 ± 0,0

FIG. 1


Consumo intermintente:
Agua vs 0,2% sacarina
+ 10% EtOH
Entrenamiento de auto-administración
10% EtOH
Línea base estable
3 semanas
3 semanas
10% EtOH
Test de auto-administración de alcohol
NTX
0,3mg/kg
(SC)
GAL (1-15)
0,3 nmol/
M871 3 nmol
(ICV)
Cánula implantada estereotáxicamente
7 días de recuperación
30'
15'
Antes del test

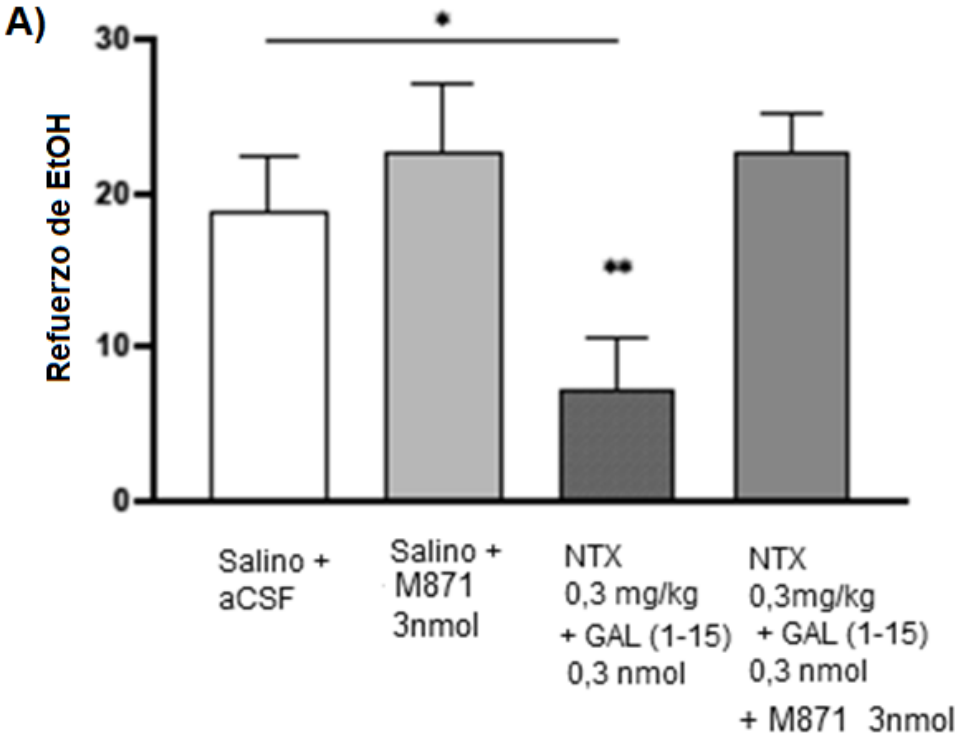
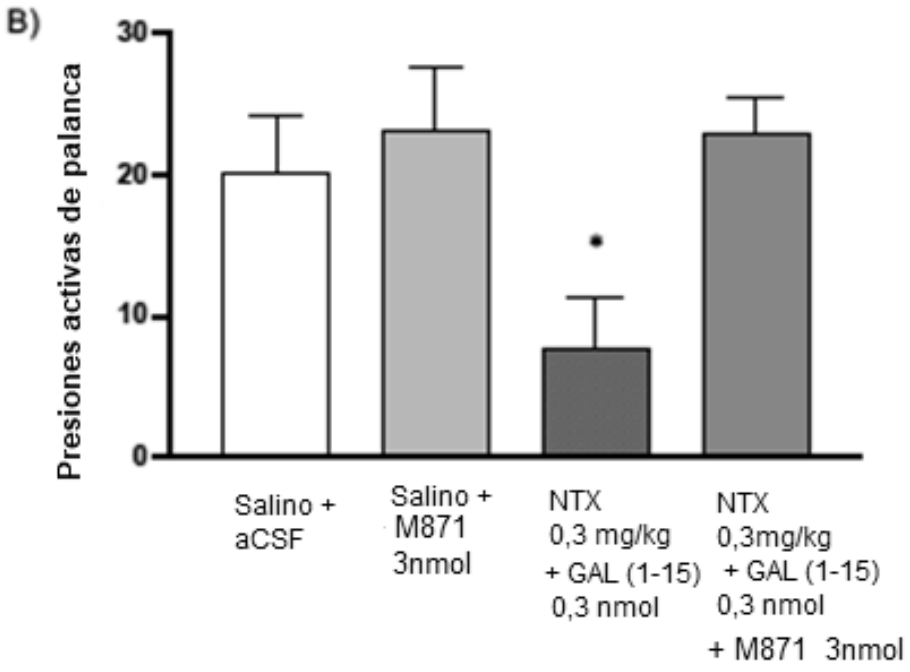

A)
Refuerzo de EtOH
30
20
10
0
*
**
Salino + aCSF
Salino + M871 3nmol
NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol
NTX 0,3mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol + M871 3nmol

FIG. 2

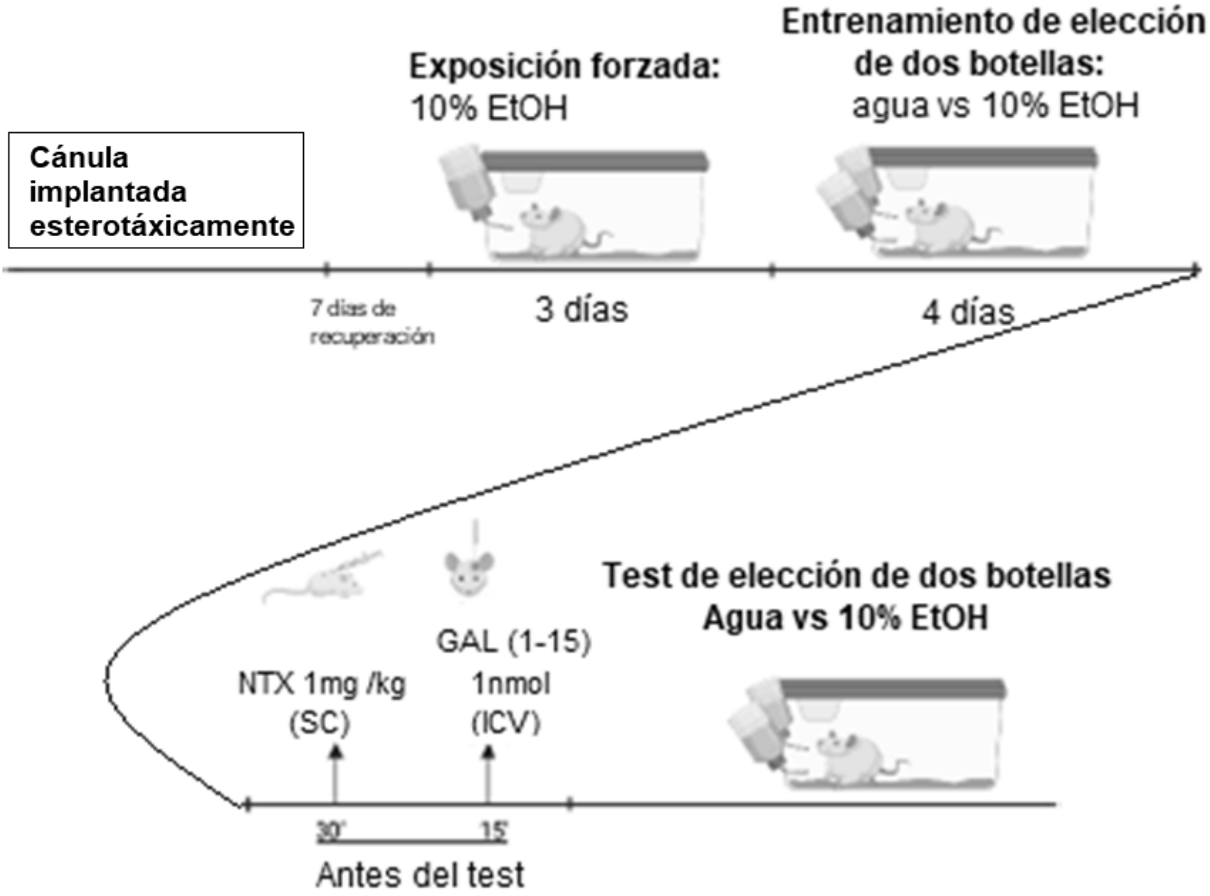
B)



C)

Tratamiento	Presiones de palanca inactiva
Salino + aCSF	0,7 ± 0,5
Salino + M871 3 nmol	0,2 ± 0,2
NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol	0,0 ± 0,0
NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol + M871 3 nmol	0,4 ± 0,3

FIG. 2


Cánula implantada esterotáxicamente
Exposición forzada: 10% EtOH
Entrenamiento de elección de dos botellas: agua vs 10% EtOH
7 días de recuperación
3 días
4 días
Test de elección de dos botellas Agua vs 10% EtOH
NTX 1mg /kg (SC)
GAL (1-15) 1nmol (ICV)
30'
15'
Antes del test

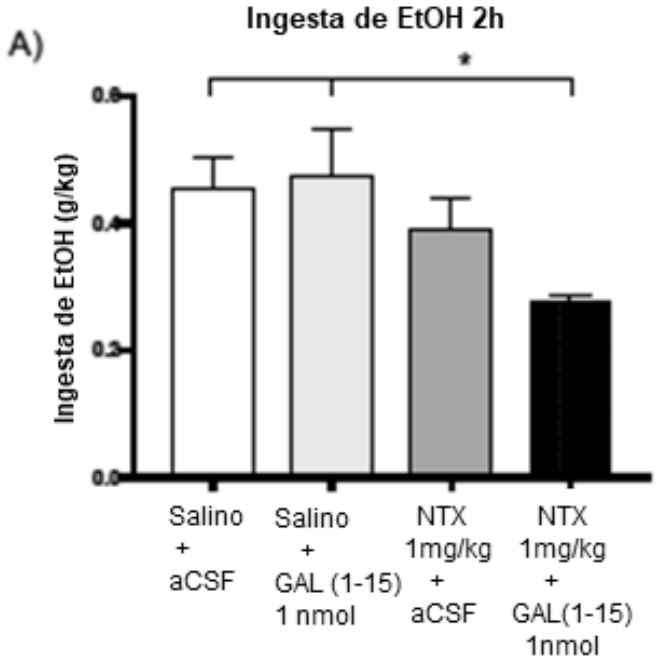

A)
Ingesta de EtOH 2h
*
Ingesta de EtOH (g/kg)
0.0
0.3
0.4
0.6
Salino + aCSF
Salino + GAL (1-15) 1 nmol
NTX 1mg/kg + aCSF
NTX 1mg/kg + GAL(1-15) 1nmol

FIG. 3

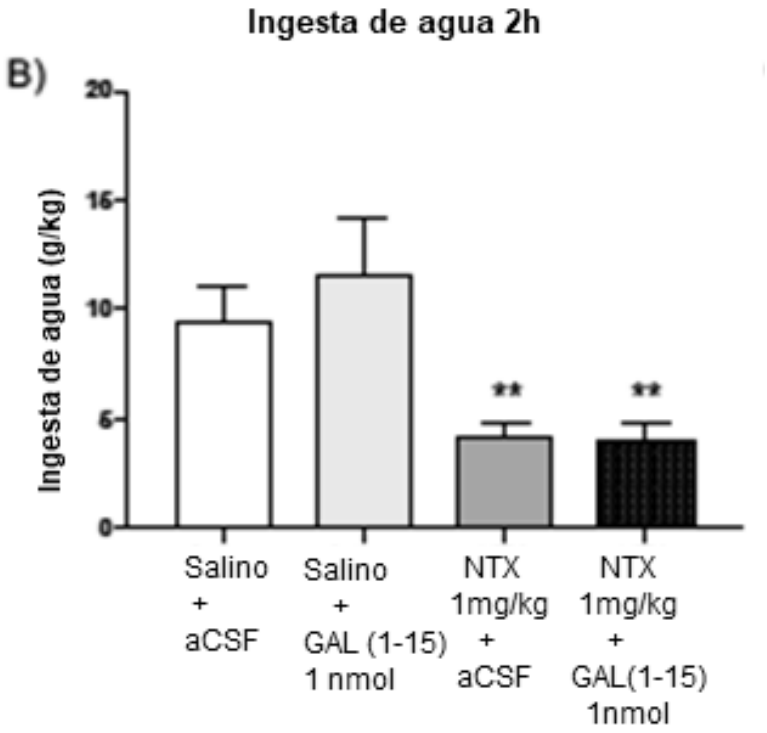
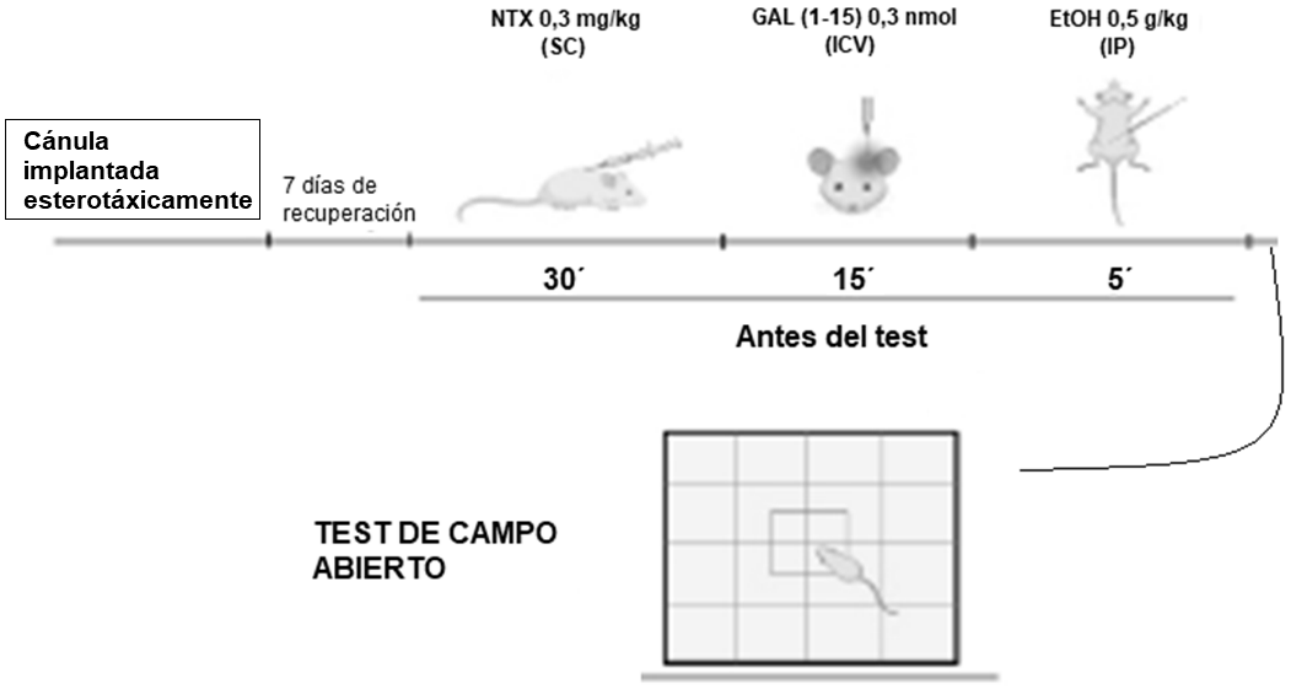

Ingesta de agua 2h
B)
Ingesta de agua (g/kg)
20
15
10
5
0
**
**
Salino + aCSF
Salino + GAL (1-15) 1 nmol
NTX 1mg/kg + aCSF
NTX 1mg/kg + GAL(1-15) 1nmol

FIG. 3


NTX 0,3 mg/kg
(SC)
GAL (1-15) 0,3 nmol
(ICV)
EtOH 0,5 g/kg
(IP)
Cánula implantada esterotáxicamente
7 días de recuperación
30´
15´
5´
Antes del test
TEST DE CAMPO ABIERTO

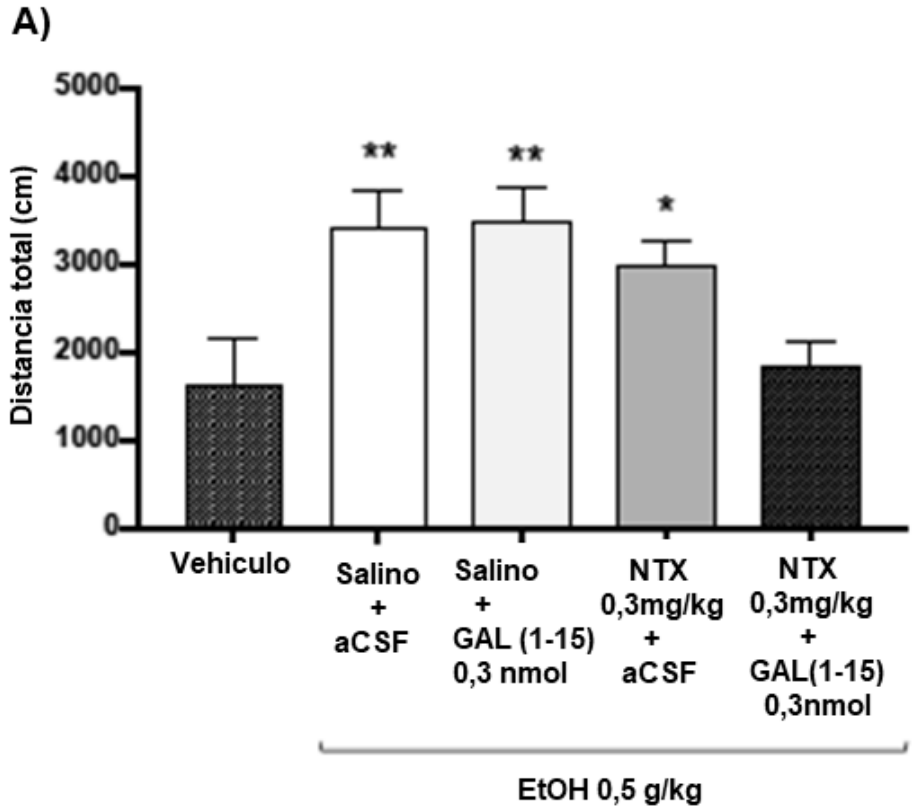

A)
Distancia total (cm)
5000
4000
3000
2000
1000
0
**
**
*
Vehiculo
Salino + aCSF
Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol
NTX 0,3mg/kg + aCSF
NTX 0,3mg/kg + GAL(1-15) 0,3nmol
EtOH 0,5 g/kg

FIG. 4

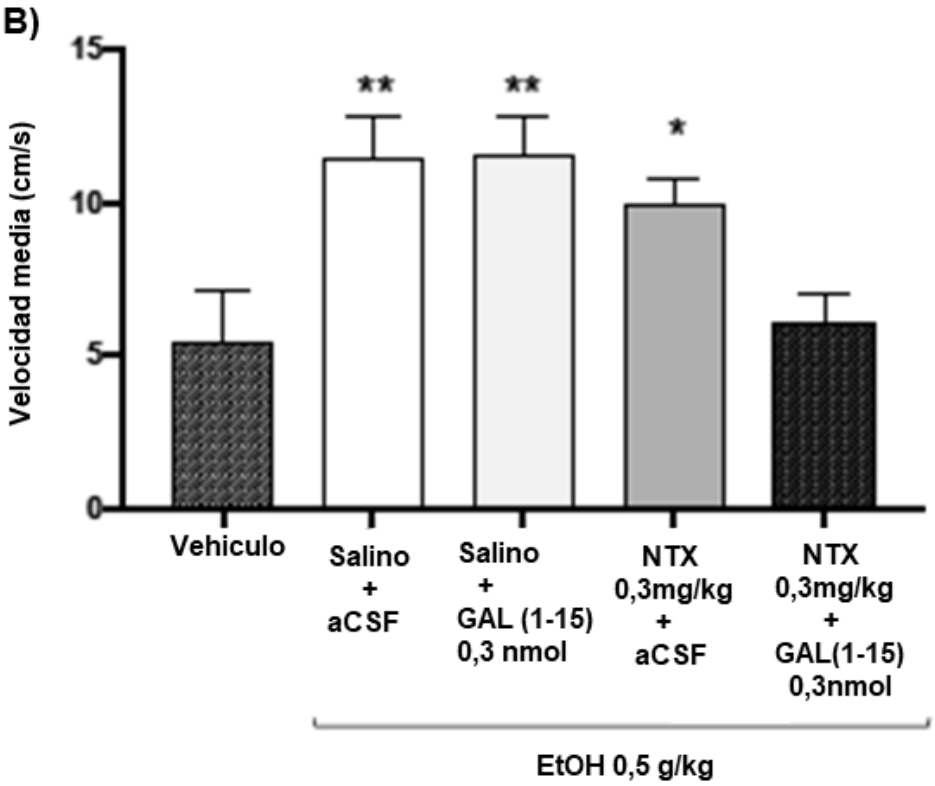
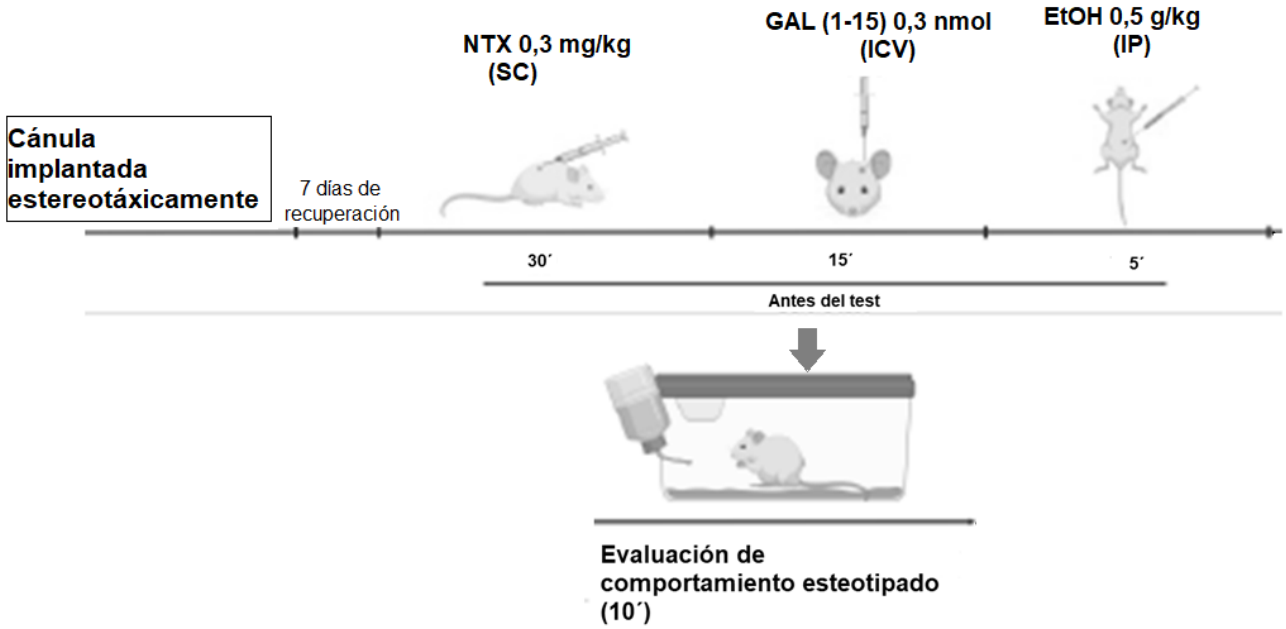

B)
Velocidad media (cm/s)
15
10
5
0
**
**
*
Vehiculo
Salino + aCSF
Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol
NTX 0,3mg/kg + aCSF
NTX 0,3mg/kg + GAL(1-15) 0,3nmol
EtOH 0,5 g/kg

FIG. 4


NTX 0,3 mg/kg
(SC)
GAL (1-15) 0,3 nmol
(ICV)
EtOH 0,5 g/kg
(IP)
Cánula
implantada
estereotáxicamente
7 días de
recuperación
30´
15´
5´
Antes del test
Evaluación de
comportamiento esteotipado
(10´)

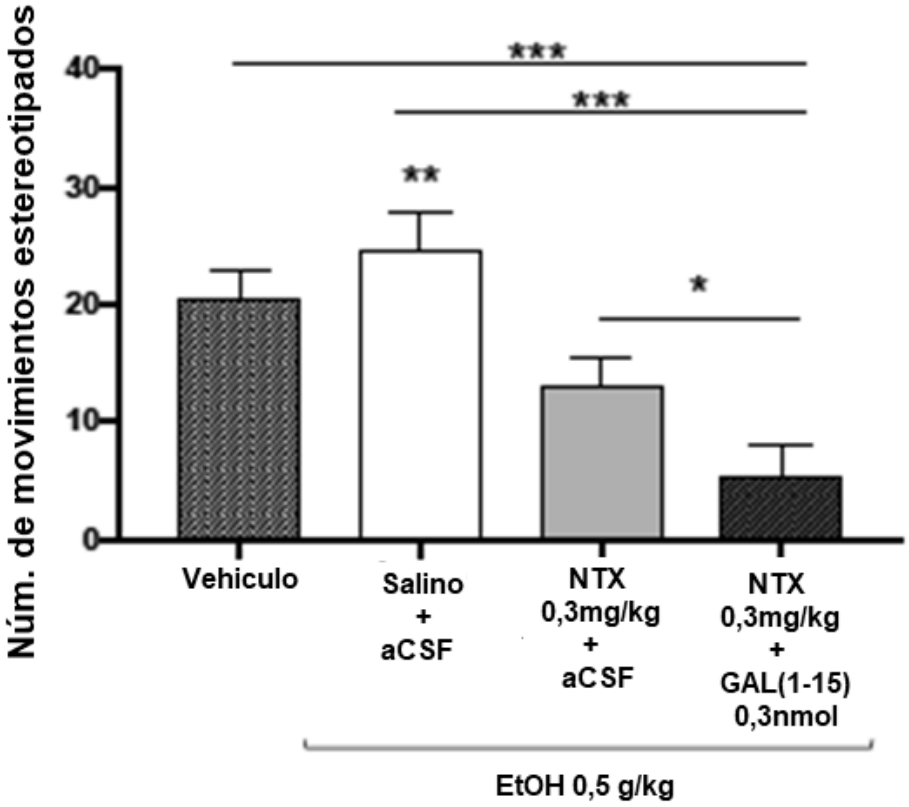
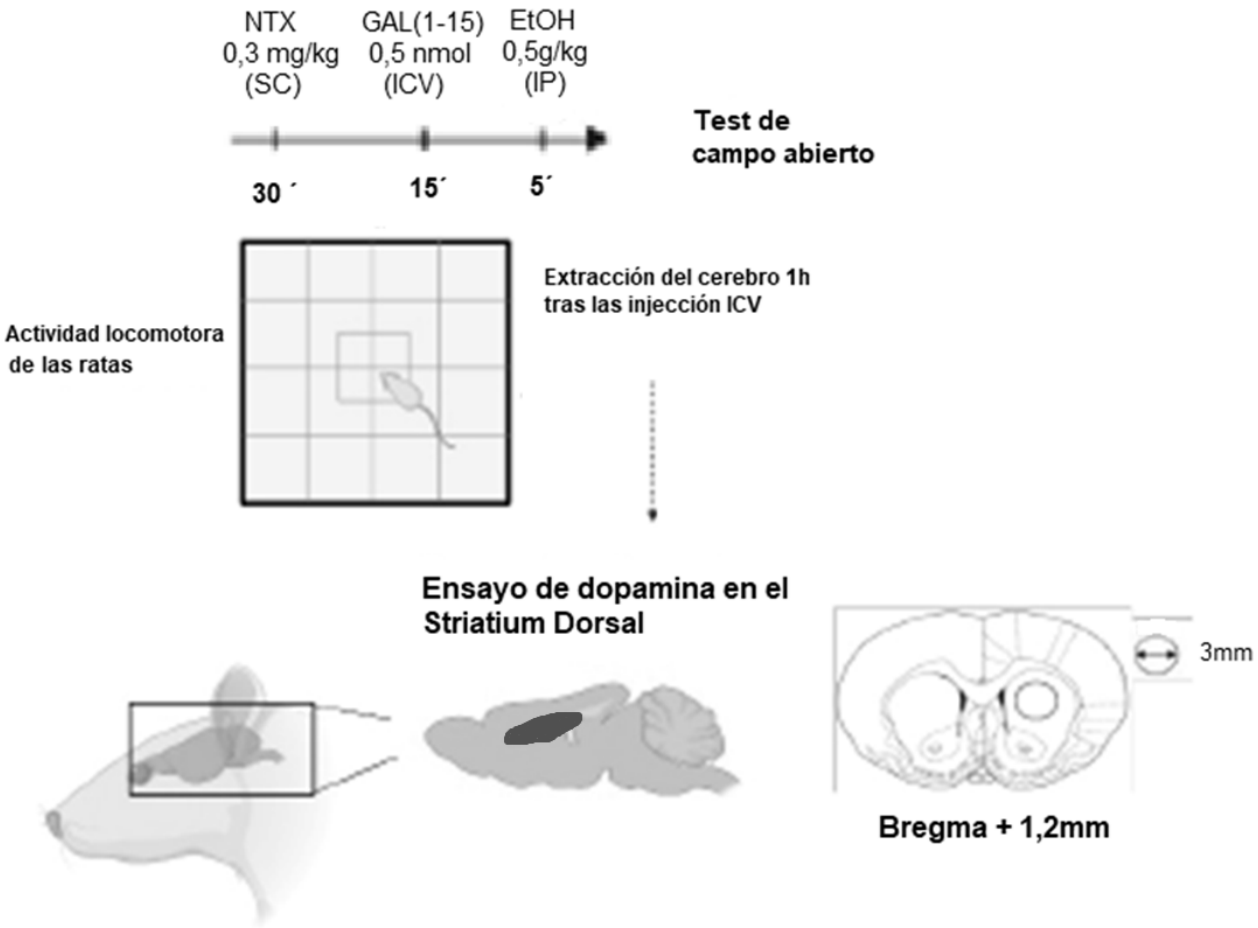

Núm. de movimientos estereotipados
40
30
20
10
0
***
***
**
*
Vehiculo
Salino
+
aCSF
NTX
0,3mg/kg
+
aCSF
NTX
0,3mg/kg
+
GAL(1-15)
0,3nmol
EtOH 0,5 g/kg

FIG. 5


NTX
0,3 mg/kg
(SC)
GAL(1-15)
0,5 nmol
(ICV)
EtOH
0,5g/kg
(IP)
Test de
campo abierto
30´
15´
5´
Actividad locomotora
de las ratas
Extracción del cerebro 1h
tras las injección ICV
Ensayo de dopamina en el
Striatium Dorsal
3mm
Bregma + 1,2mm

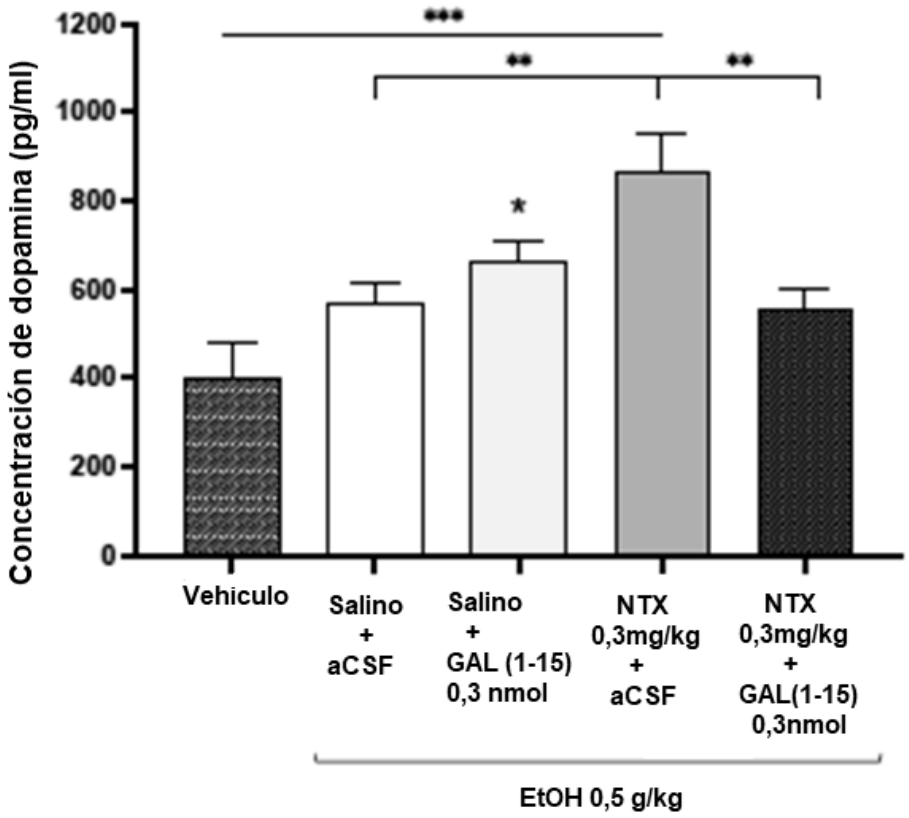
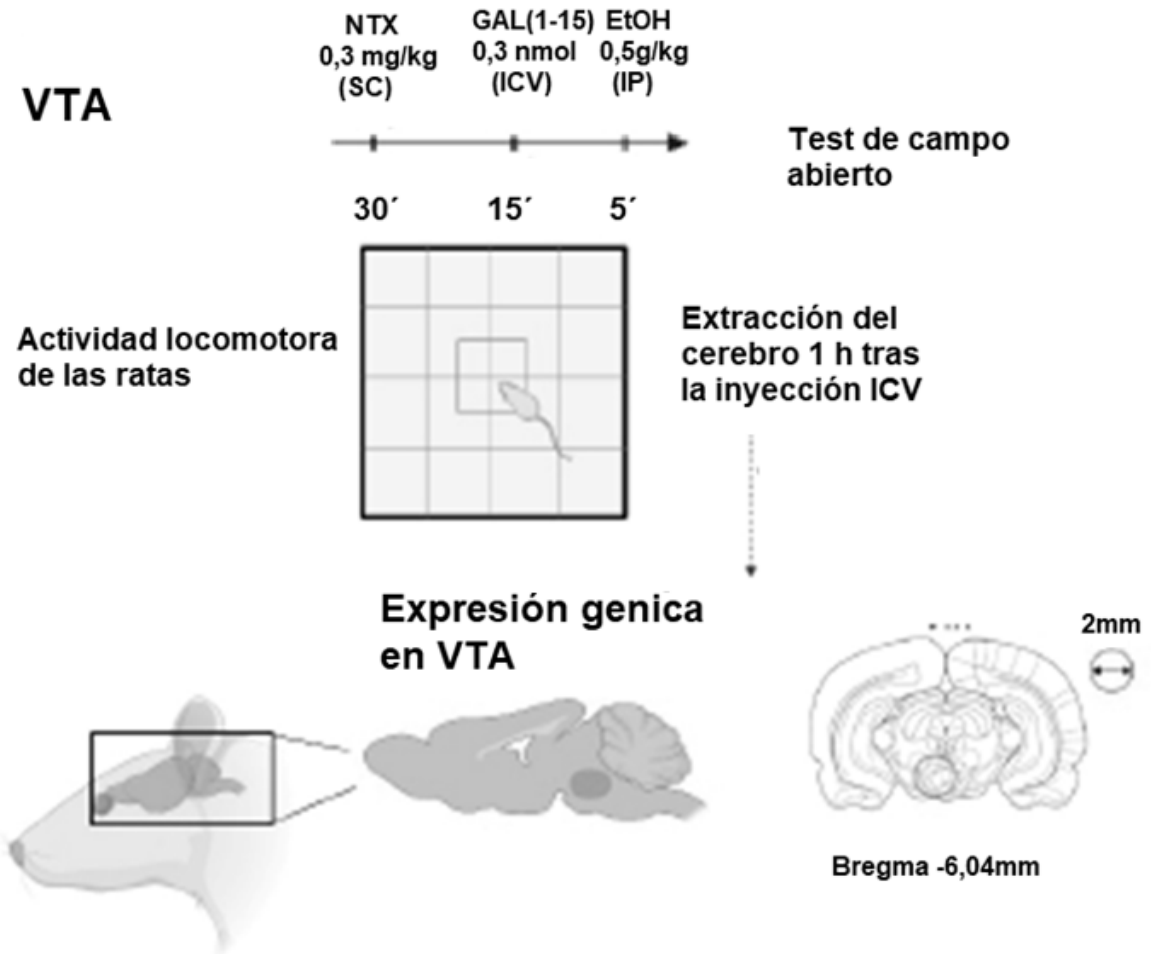

Concentración de dopamina (pg/ml)
1200
1000
800
600
400
200
0
***
**
**
*
Vehiculo
Salino
+
aCSF
Salino
+
GAL (1-15)
0,3 nmol
NTX
0,3mg/kg
+
aCSF
NTX
0,3mg/kg
+
GAL(1-15)
0,3nmol
EtOH 0,5 g/kg

FIG. 6


VTA
NTX
0,3 mg/kg
(SC)
GAL(1-15)
0,3 nmol
(ICV)
EtOH
0,5g/kg
(IP)
Test de campo
abierto
30´
15´
5´
Actividad locomotora
de las ratas
Extracción del
cerebro 1 h tras
la inyección ICV
Expresión genica
en VTA
2mm
Bregma -6,04mm

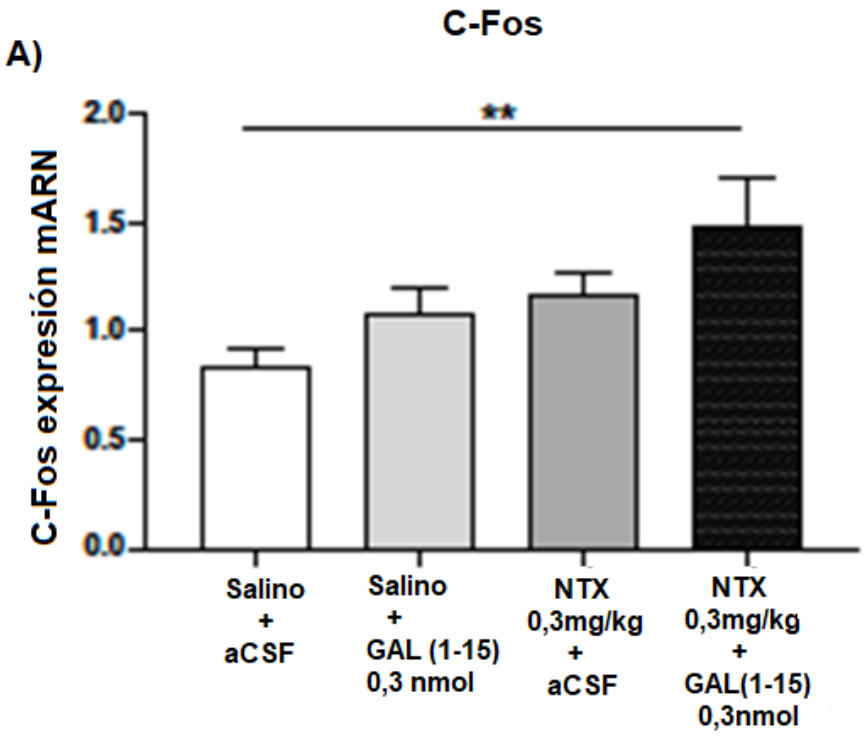
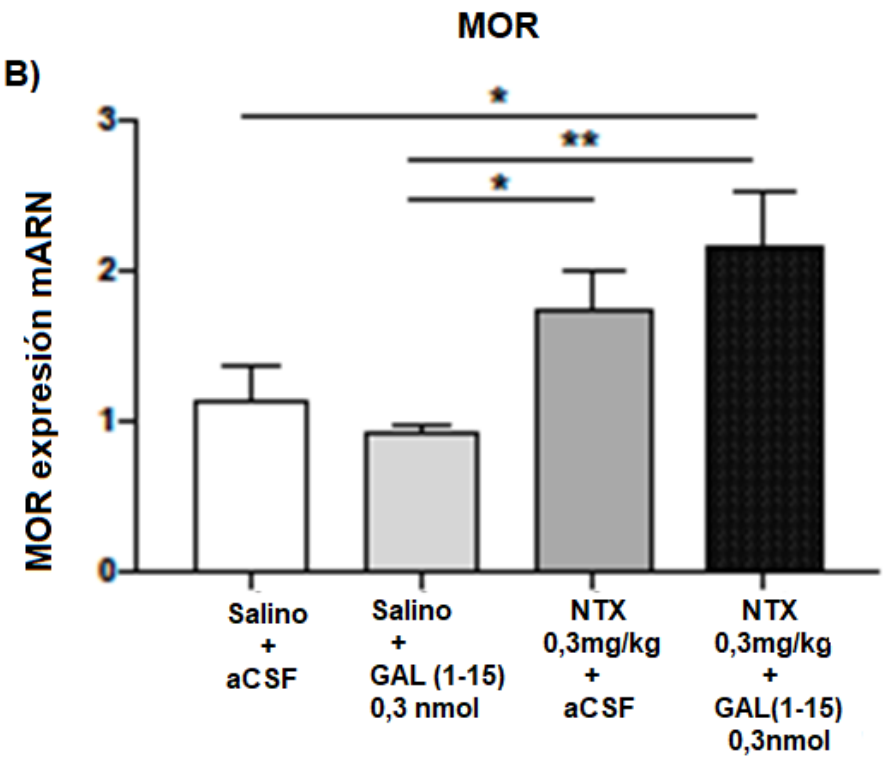

A)
C-Fos
**
C-Fos expresión mARN
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Salino
+
aCSF
Salino
+
GAL (1-15)
0,3 nmol
NTX
0,3mg/kg
+
aCSF
NTX
0,3mg/kg
+
GAL(1-15)
0,3nmol

FIG. 7

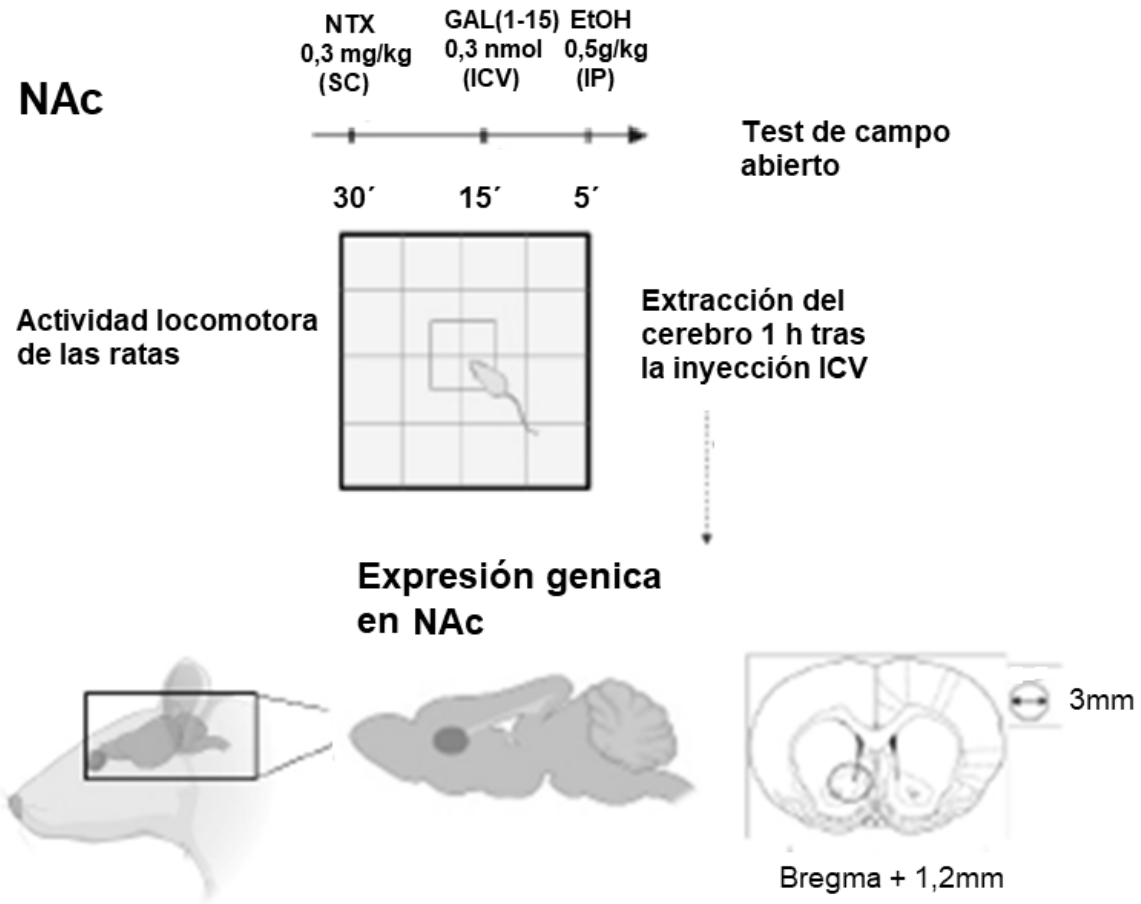
B)



C)

VTA	Salino + aCSF	Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol	NTX 0,3 mg/kg + aCSF	NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol
DAT	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,5	1,2 ± 0,3	1,4 ± 0,7
VMAT2	1,2 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,9 ± 0,2	1,1 ± 0,2
D1	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,0	0,8 ± 0,1
D2	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,2	0,8 ± 0,1	1,2 ± 0,3
D3	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1	0,7 ± 0,1
GALR1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,9 ± 0,1	0,8 ± 0,1
GALR2	1,1 ± 0,1	1,1 ± 0,1	1,0 ± 0,1	1,1 ± 0,1
GALR3	0,9 ± 0,1	0,7 ± 0,2	1,0 ± 0,1	1,2 ± 0,4

FIG. 7


NAc
NTX
0,3 mg/kg
(SC)
GAL(1-15)
0,3 nmol
(ICV)
EtOH
0,5g/kg
(IP)
Test de campo
abierto
30´
15´
5´
Actividad locomotora
de las ratas
Extracción del
cerebro 1 h tras
la inyección ICV
Expresión genica
en NAc
3mm
Bregma + 1,2mm

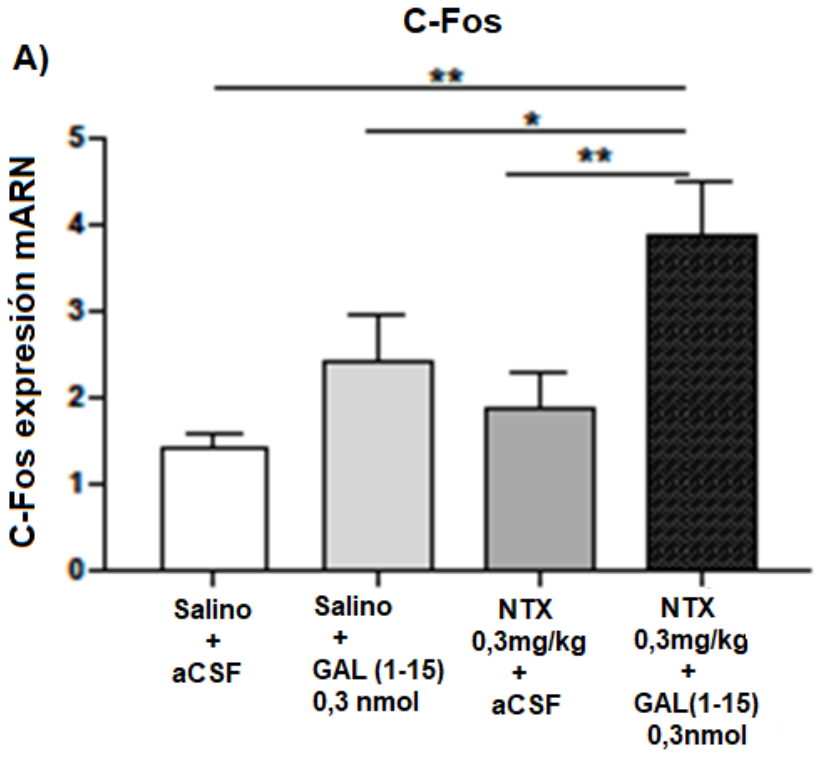
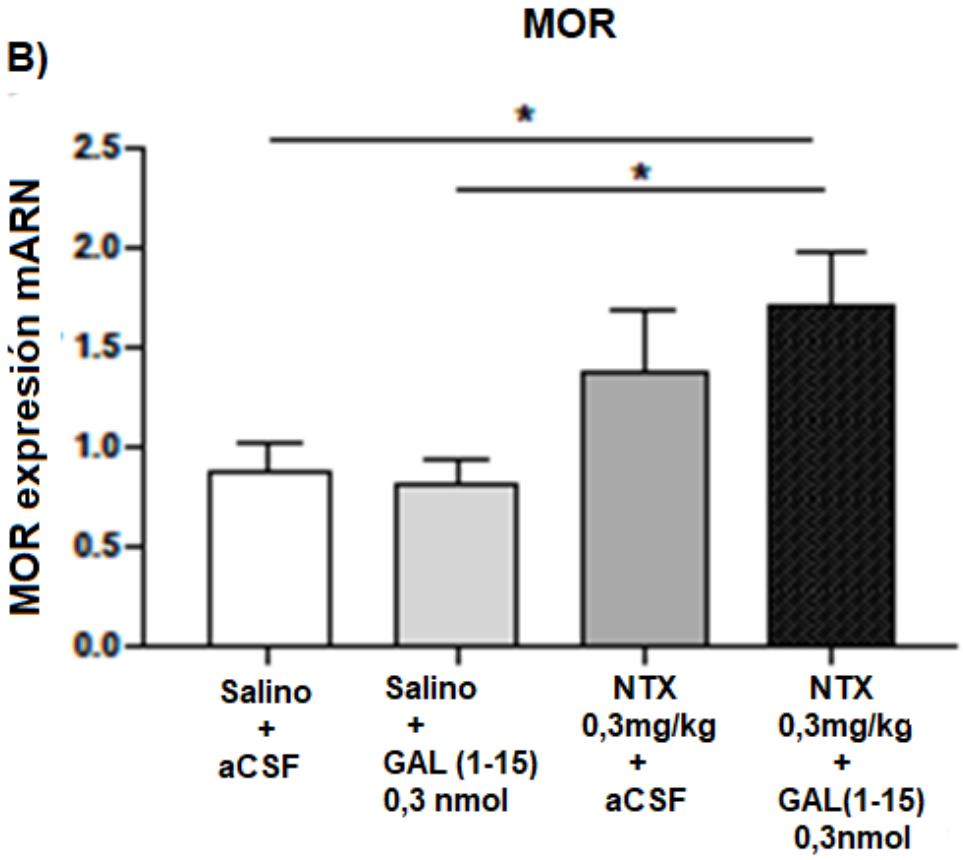

A)
C-Fos
C-Fos expresión mARN
0
1
2
3
4
5
**
*
**
Salino
+
aCSF
Salino
+
GAL (1-15)
0,3 nmol
NTX
0,3mg/kg
+
aCSF
NTX
0,3mg/kg
+
GAL(1-15)
0,3nmol

FIG. 8

B)



C)

NAc	Salino + aCSF	Salino + GAL (1-15) 0,3 nmol	NTX 0,3 mg/kg + aCSF	NTX 0,3 mg/kg + GAL (1-15) 0,3 nmol
D1	1,1 ± 0,3	1,3 ± 0,7	6,2 ± 2,1	8,3 ± 2,6*
D2	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,4a	1,9 ± 0,4**	1,0 ± 0,3
GALR1	0,7 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,0	0,6 ± 0,1
GALR2	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,7 ± 0,1	1,1 ± 0,2
GALR3	0,7 ± 0,1	1,2 ± 0,5	0,4 ± 0,0	0,9 ± 0,1

FIG. 8

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 202530268

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 01.04.2025

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. CI.: ***A61P25/32*** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
Y	RAY, LARA A. et al. Naltrexone for the treatment of alcoholism: clinical findings, mechanisms of action, and pharmacogenetics. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*. 03/2010. *V*ol. 9, Nº1, páginas 13-22, ISSN 1871-5273 (impreso), ISSN 1996-3181 (electrónico) DOI:10.2174/187152710790966704. *Abstract*; página 13, columna 2, párrafo 1; y página 14, columna 1, párrafo 5.	1-5, 8-13
Y	MILLÓN, CARMELO et al. Central administration of galanin N- terminal fragment 1–15 decreases the voluntary alcohol intake in rats. *Addiction Biology*. 06/12/2017. Vol. 24, Nº 1, páginas 76-87, ISSN 1355-6215 (impreso), ISSN 1369-1600 (electrónico), <DOI: 10.1111/adb.12582>. *Abstrac*t; página 4, *GAL(1–15) induced a decrease of ethanol intake and alcohol preference in the two-bottle choice paradigm*; página 10, columna 1, párrafo 5; y página 5, *GALR2 antagonist M871 blocked GAL(1–15)-mediated effects in the two-bottle choice paradigm*.	1-5, 8-13
A	US 2019365675 A1 (SERVICIO ANDALUZ DE SALUD et al.) 05/12/2019	1-5, 8-13

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud
T. documento que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención

El presente informe ha sido realizado

☐ para todas las reivindicaciones

☒ para las reivindicaciones nº: 1-5, 8-13

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
15.01.2026	Á. Gálvez Flores	1/3

OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(21) N.º solicitud: 202530268

(22) Fecha de presentación de la solicitud: 01.04.2025

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

(51) Int. CI.: ***A61P25/32*** (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	(56) Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	GOONOO, NOWSHEEN et al. Naltrexone: A review of existing sustained drug delivery systems and emerging nano-based systems. *Journal of Controlled Release*. 02/04/2014 (en línea), 10/06/2014 (impreso). Vol. 183, páginas 154-166, ISSN 0168-3659, <DOI: 10.1016/j.jconrel.2014.03.046>	1-5, 8-13
A	MCMILLEN, BRIAN A. Reviews and comments on alcohol research. *Alcohol*. 01/07/1994 (impreso), 14/02/2003 (en línea). Vol. 11, Nº 4, páginas 347-349, ISSN 0741-8329, <DOI: 10.1016/0741-8329(94)90103-1>	1-5, 8-13
A	MORENO ESTEFANÍA et al. Functional mu-opioid-galanin receptor heteromers in the ventral tegmental area. *The Journal of Neuroscience.* 22/12/2016 (en línea), 01/02/2017 (impreso), Vol. 37, Nº 5, Páginas 1176-1186, ISSN 1529-2401 (electrónico), <DOI: 10.1523/JNEUROSCI.2442-16.2016>	1-5, 8-13
A	RADA PEDRO et al. Ethanol intake is increased by injection of galanin in the paraventricular nucleus and reduced by a galanin antagonist. *Alcohol.* 01/06/2004 (impreso), 02/11/2004 (en línea) Vol. 33, Nº 2, páginas 91-97, ISSN 0741-8329, <DOI: 10.1016/j.alcohol.2004.05.002>	1-5, 8-13
T	FLORES-GOMEZ, MARTA et al. Galanin(1−15) and Naltrexone: A novel approach for alcohol use disorder in rats, involving the mesolimbic system. *Biomedicine & Pharmacotherapy.* 16/05/2025 (en línea), 07/2025 (impreso), Vol. 188, artículo nº 118170, ISSN: 0753-3322, <DOI: 10.1016/j.biopha.2025.118170.> Página 9, columna 1, párrafo 4.	1-5, 8-13

Categoría de los documentos citados
X: de particular relevancia
Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría
A: refleja el estado de la técnica
O: referido a divulgación no escrita
P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud
E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud
T. documento que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención

El presente informe ha sido realizado

☐ para todas las reivindicaciones

☒ para las reivindicaciones nº: 1-5, 8-13

Fecha de realización del informe	Examinador	Página
15.01.2026	Á. Gálvez Flores	2/3

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

AbS colección patentes, AbS colección literatura no patente, INVENES/LATIPAT, Google Patents, Espacenet.