



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 323 582**

51 Int. Cl.:  
**A61K 33/00** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)  
**A61P 41/00** (2006.01)  
**A61K 9/72** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **03725356 .4**  
96 Fecha de presentación : **01.05.2003**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1499329**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.01.2005**

54 Título: **Utilización de xenón para el control de déficits neurológicos asociados con una derivación cardiopulmonar.**

30 Prioridad: **01.05.2002 GB 0209998**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**21.07.2009**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**21.07.2009**

73 Titular/es: **Protexeon Limited**  
**Aldwych House, 81 Aldwych**  
**London WC2B 4HN, GB**

72 Inventor/es: **Franks, N.P. y**  
**Maze, M.**

74 Agente: **Curell Suñol, Marcelino**

ES 2 323 582 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Utilización de xenón para el control de déficits neurológicos asociados con una derivación cardiopulmonar.

5 La presente invención se refiere a procedimientos para controlar déficits neurológicos en pacientes que han sido sometidos a derivación cardiopulmonar (CPB).

10 CPB se refiere a la aplicación a un paciente de oxigenación de membrana extracorpórea evitando corazón y pulmones, tal como, por ejemplo, en la cirugía a corazón abierto. El dispositivo extrae sangre del cuerpo, la desvía por una máquina cardiopulmonar (un oxigenador de bomba) que oxigena la sangre previamente a su retorno a la circulación sistémica bajo presión. La máquina realiza el trabajo tanto del corazón (bombeo de sangre) como de los pulmones (suministro de oxígeno a los glóbulos rojos, extracción del dióxido de carbono), permitiendo de esta manera que el cirujano lleve a cabo cirugía cardíaca primaria en un corazón que temporalmente no funciona.

15 Sin embargo, desde la llegada de la CPB, se han documentado ampliamente en el ser humano lesiones cerebrales secundarias a la cirugía cardíaca (Gardner, T. *et al.*, Ann. Thorac. Surg. 40:574-81, 1985; Tuman, K.J. *et al.*, J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 104:1510-7, 1992; Newman, M. *et al.*, Multicenter Study of Perioperative Ischaemia Research Group, Circulation 94:74-80, 1996). Las manifestaciones clínicas de este tipo de lesión varían entre un ictus manifiesto y disfunciones neurocognitivas sutiles (Roach, G. *et al.*, N. Engl. J. Med. 335:1857-63, 1996; Newman, M. *et al.*, N. Engl. J. Med. 344:395-402, 2001). Tal como se utiliza en la presente memoria, los términos “neurocomportamental” y “neurológico” se utilizan intercambiamente.

20 Más específicamente, entre las desventajas asociadas a la CPB se incluyen déficits neurológicos, tales como déficits neuromotores, neurocognitivos o de memoria espacial. Típicamente estos déficits resultan evidentes durante los primeros pocos días después de someter al paciente a la CPB.

De esta manera, la presente invención pretende proporcionar un neuroprotector capaz de controlar y/o aliviar una o más de las desventajas asociadas a la CPB.

### 30 Descripción de la invención

Un primer aspecto de la invención se refiere a la utilización de xenón en la preparación de un medicamento para controlar uno o más de los déficits neurológicos asociados a la CPB, en la que se administra xenón antes de iniciar la CPB y durante la CPB (derivación cardiopulmonar).

35 Un segundo aspecto de la invención proporciona el control de uno o más déficits neurológicos asociados a la CPB en un mamífero, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- 40 (i) administrar xenón a dicho mamífero antes del inicio de la CPB,
- (ii) administrar xenón en dicho mamífero durante la CPB, y
- (iii) administrar xenón en dicho mamífero tras concluir la CPB.

### 45 Descripción detallada

El xenón es un gas químicamente inerte cuyas propiedades anestésicas se han conocido durante más de 50 años (Lawrence, J.H. *et al.*, J. Physiol. 105:197-204, 1946). Desde la primera utilización del mismo en cirugía (Cullen, S.C. *et al.*, Science 113:580-582, 1951), varios grupos de investigación han demostrado que presenta un perfil farmacológico excelente, incluyendo la ausencia de productos metabólicos secundarios, la analgesia profunda, el rápido inicio y recuperación, y efectos mínimos sobre el sistema cardiovascular (Lachmann, B. *et al.*, Lancet 335:1413-1415, 1990; Kennedy, R.R. *et al.*, Anaesth. Intens. Care 20:66-70, 1992; Luttrupp, H.H. *et al.*, Acta Anaesthesiol. Scand. 38:121-125, 1994; Goto, T. *et al.*, Anesthesiology 86:1273-1278, 1997; Marx, T. *et al.*, Br. J. Anaesth. 78:326-327, 1997). Sin embargo, hasta recientemente no se han identificado los mecanismos moleculares subyacentes a la actividad clínica del xenón.

Los estudios anteriores realizados por el solicitante han revelado que el xenón presenta propiedades neuroprotectoras. En particular, el documento WO n° 01/08692 se refiere a la utilización del xenón como neuroprotector y/o como inhibidor de la plasticidad sináptica. Sin embargo, no existe enseñanza o sugerencia en la técnica anterior de que el xenón resulte efectivo como neuroprotector en el contexto de la invención presentemente reivindicada.

El documento WO n° 00/53192 A no describe de una manera directa e inequívoca la administración de xenón en un paciente antes del inicio de la CPB y durante la misma.

65 Tal como se utiliza en la presente invención, el término “neuroprotector” se refiere a un agente que es capaz de proporcionar neuroprotección, es decir, de proteger una entidad neural, tal como una neurona, en un sitio de lesión, por ejemplo una lesión isquémica o traumática.

En una forma de realización preferida, el xenón es un antagonista de NDMA.

El término “antagonista” se utiliza en el sentido normal de la técnica, es decir, un compuesto químico que evita la activación funcional de un receptor por parte del agonista natural del mismo (en el presente caso, el glutamato).

5

El receptor NDMA (N-metil-D-aspartato) es una subclase mayor de receptor de glutamato y se cree que el glutamato es el neurotransmisor excitatorio más importante del sistema nervioso central de los mamíferos. Resulta importante la demostración de que la activación del receptor NDMA es el suceso central que conduce a excitotoxicidad y muerte neuronal en muchos estados de enfermedad, además de como resultado de la hipoxia e isquemia producidas por traumatismos en la cabeza, por ictus y que siguen al fallo cardíaco.

10

Es conocido de la técnica que el receptor de NDMA desempeña un papel importante en la plasticidad sináptica subyacente a muchas funciones cognitivas superiores, tales como la memoria y el aprendizaje, así como en determinadas rutas nociceptivas y en la percepción del dolor (Collingridge *et al.*, *The NDMA Receptor*, Oxford University Press, 1994). Además, determinadas propiedades de los receptores de NDMA sugieren que podrían encontrarse implicadas en el procesamiento cerebral de la información que subyace a la conciencia misma.

15

Los antagonistas del receptor de NDMA resultan terapéuticamente valiosos por varios motivos. En primer lugar, los antagonistas del receptor de NDMA proporcionan analgesia profunda, un componente altamente deseable de la anestesia general y la sedación. En segundo lugar, los antagonistas del receptor NDMA son neuroprotectores bajo muchas circunstancias clínicamente relevantes (incluyendo la isquemia, el traumatismo cerebral, los estados de dolor neuropático y determinados tipos de convulsión). En tercer lugar, los antagonistas del receptor NDMA proporcionan un grado valioso de amnesia.

20

Sin embargo, existen varios inconvenientes asociados a muchos antagonistas convencionales del receptor de NDMA. Entre éstas se incluyen la producción de movimientos involuntarios, la estimulación del sistema nervioso simpático, la inducción de neurotoxicidad a dosis elevadas (que resulta pertinente debido a que los antagonistas del receptor NDMA presentan una potencia reducida como anestésicos generales), la depresión del miocardio y las proconvulsiones en algunos paradigmas epileptogénicos, por ejemplo la activación inducida (Wlaz, P. *et al.*, *Eur. J. Neurosci.* 6:1710-1719, 1994). En particular, se han presentado dificultades considerables durante el desarrollo de nuevos antagonistas del receptor de NDMA capaces de cruzar la barrera hematocefálica. Este factor también ha limitado las aplicaciones terapéuticas de muchos antagonistas de NDMA conocidos.

25

30

Al contrario que muchos otros antagonistas de NDMA, el xenón es capaz de equilibrarse rápidamente con el cerebro mediante difusión a través de la barrera hematocefálica. Una ventaja adicional de la utilización del xenón como antagonista de NDMA es que la molécula es un gas volátil inerte que puede ser rápidamente eliminado a través de la respiración.

35

En una forma de realización particularmente preferida, el xenón controla uno o más déficits neurológicos asociados a la CPB.

40

Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “control de déficits neurológicos” se refiere a la reducción de la severidad de uno o más déficits neurológicos en comparación con que la CPB en ausencia de xenón.

45

En una forma de realización todavía más preferida, el déficit neurológico puede ser un déficit neuromotor o neurocognitivo. Tal como se utiliza en la presente memoria, la expresión “déficit neuromotor” según el experto en la materia incluye los déficits de fuerza, equilibrio y movilidad. De manera similar, la expresión “déficit neurocognitivo” según el experto en la materia incluye los déficits de aprendizaje y de memoria. Estos déficits neurocognitivos pueden evaluarse típicamente mediante criterios bien establecidos, tales como el módulo de historia corta del ensayo de memoria de Randt [Randt, C., Brown, E., *Administration manual: Randt Memory Test*, New York: Life Sciences, 1983], el subensayo de secuencias de números y el subensayo de símbolos digitales de la escala Wechsler revisada de inteligencia del adulto [Wechsler, D., *The Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (WAIS-R)*, San Antonio, Tex.: Psychological Corporation, 1981], el ensayo de Benton revisado de retención visual [Benton, A.L., Hansher, K., *Multilingual aphasia examination*, Iowa City: University of Iowa Press, 1978] y el ensayo del trazo (parte B) [Reitan, R.M., *Validity of the Trail Making Test as an indicator of organic brain damage*, *Percept. Mot. Skills* 8:271-6, 1958]. Otros ensayos neuromotores y neurocognitivos adecuados se describen en Combs, D., D'Alecy, L., *Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: Effect of fasting and 1,3-butanediol*, *Stroke* 18:503-511, 1987, y Gionet, T., Thomas, J., Warner, D., Goodlett, C., Wasserman, E., West, J., *Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with hippocampal injury in rats*, *Stroke* 22:1040-1047, 1991).

50

55

60

Preferentemente, el xenón se administra en combinación con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

65

Pueden encontrarse ejemplos de dichos excipientes adecuados para las diversas formas diferentes de composiciones farmacéuticas indicadas en la presente memoria, en el “*Handbook of Pharmaceutical Excipients*”, 2a edición, (1994), editado por A. Wade y P.J. Weller.

## ES 2 323 582 T3

Los portadores o diluyentes aceptables para la utilización terapéutica son bien conocidos de la técnica farmacéutica y se describen, por ejemplo, en: Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A.R. Gennaro, editor, 1985). Entre los ejemplos de portadores adecuados se incluyen lactosa, almidón, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, manitol, sorbitol y similares. Entre los ejemplos de diluyentes adecuados se incluyen etanol, glicerol y agua.

La elección de portador, excipiente o diluyente farmacéutica puede seleccionarse a partir de la vía pretendida de administración y la práctica farmacéutica estándar. Las composiciones farmacéuticas pueden comprender como portador, excipiente o diluyente, o además del mismo, cualquier ligante o ligantes, lubricante o lubricantes, agente o agentes de suspensión, agente o agentes de recubrimiento o agente o agentes de solubilización adecuados.

Entre los ejemplos de ligantes adecuados se incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como glucosa, lactosa anhidra, lactosa de flujo libre, beta-lactosa, edulcorantes del maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como acacia, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa y polietilenglicol.

Entre los ejemplos de lubricantes adecuados se incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico y similares.

Pueden proporcionarse conservantes, estabilizantes y pigmentos en la composición farmacéutica. Entre los ejemplos de conservantes se incluyen benzoato sódico, ácido sórbico y ésteres de ácido p-hidroxibenzoico. También pueden utilizarse antioxidantes y agentes de suspensión.

El xenón también puede administrarse en combinación con otro agente farmacéuticamente activo. El agente puede ser cualquier agente farmacéuticamente activo, incluyendo agentes anestésicos o sedantes que estimulan la actividad GABAérgica. Entre los ejemplos de estos agentes GABAérgicos se incluyen isoflurano, propofol y benzodiazepinas.

El xenón también puede administrarse en combinación con otros ingredientes activos, tales como los bloqueantes del canal de calcio de tipo L, los bloqueantes del canal de calcio de tipo N, los antagonistas de la sustancia P, los bloqueantes del canal de sodio, los bloqueantes del receptor purinérgico o combinaciones de los mismos.

El xenón puede administrarse mediante cualquier mecanismo de administración adecuado, o dos o más mecanismos de administración adecuados.

En una forma de realización particularmente preferida, el xenón se administra por perfusión. En el contexto de la presente invención, el término "perfusión" se refiere a la introducción de una mezcla de oxígeno/xenón en un paciente, y a la extracción del dióxido de carbono del mismo, utilizando una máquina cardiopulmonar especializada. En términos generales, la máquina cardiopulmonar sustituye la función del corazón y de los pulmones y proporciona un campo quirúrgico sin sangre e inmóvil para el cirujano. El perfusionista ventila la sangre del paciente para controlar el nivel de oxígeno y de dióxido de carbono. En el contexto de la presente invención, el perfusionista también introduce xenón en la sangre del paciente. A continuación, el perfusionista impulsa la sangre de vuelta al sistema arterial para proporcionar flujo sanguíneo nutritivo a todos los órganos y tejidos vitales del paciente durante la cirugía cardiaca.

En otra forma de realización muy preferida, el xenón se administra por inhalación. Más preferentemente, el xenón se administra por inhalación de una mezcla de xenón/oxígeno al 70-30% v/v.

El xenón se administra en un paciente de una manera familiar para el experto en la materia. Los pacientes sometidos a CPB se ventilan convenientemente y puede administrarse xenón en la misma línea o en una diferente a la de oxígeno/CO<sub>2</sub>.

En una forma de realización particularmente preferida, el xenón o mezcla de xenón/oxígeno se administra utilizando una máquina combinada inhaladora/cardiopulmonar tal como se describe en la solicitudes de patente PCT co-pendientes de Air Products and Chemicals, Inc. [números de referencia del abogado del agente P8942WO, P8943WO y P8944WO, la totalidad de las mismas presentada el 1 de mayo de 2003, reivindicando prioridad de las solicitudes de patente UK n° 0210021.2, n° 0210022.0 y n° 0210023.8, respectivamente, la totalidad presentadas el 1 de mayo de 2002].

Todavía en otra forma de realización preferida, el xenón se administra en forma líquida. Preferentemente, el líquido se administra en forma de una solución o de una emulsión preparada a partir de soluciones estériles o esterilizables, que pueden inyectarse por vía intravenosa, intraarterial, intratecal, subcutánea, intradérmica, intraperitoneal o intramuscular.

En una forma de realización particularmente preferida, el xenón se administra en forma de una emulsión lipídica. La formulación intravenosa típicamente contiene una emulsión lipídica (tal como las emulsiones disponibles comercialmente Intralipid®10, Intralipid®20, Intrafat®, Lipofundin®S o Liposyn®, o una especialmente formulada para maximizar la solubilidad) que incrementa suficientemente la solubilidad del xenón para alcanzar el efecto clínico deseado. Puede encontrarse información adicional sobre las emulsiones lipídicas de este tipo en G. Kleinberger y H. Pamperl, Infusionstherapie 3:108-117, (1983).

La fase lipídica de la presente invención que disuelve o dispersa el gas típicamente se forma a partir de ésteres de ácido graso saturado o insaturado de cadena larga o mediana que presentan entre 8 y 30 átomos de carbono. Estos lípidos forman liposomas en solución acuosa. Entre los ejemplos se incluyen aceite de pescado y aceites vegetales, tales como aceite de soja, aceite de cardo o aceite de semilla de algodón. Las emulsiones lipídicas de la invención típicamente son emulsiones de aceite en agua en las que la proporción de lípido en la emulsión convencionalmente es de entre 5% y 30% en peso, y preferentemente de entre 10% y 20% en peso. Las emulsiones de aceite en agua de este tipo con frecuencia se preparan en presencia de un agente emulsionante, tal como fosfatido de soja.

Los lípidos que forman los liposomas de la presente invención pueden ser naturales o sintéticos y entre ellos se incluyen colesterol, glucolípidos, esfingomielina, glucolípidos, glucoesfingolípidos, fosfatidilcolina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina, fosfatidilglicerol y fosfatidilinositol.

Las emulsiones lipídicas de la presente invención también comprenden componentes adicionales. Entre ellos, pueden incluirse antioxidantes, aditivos que provocan que la osmolaridad de la fase acuosa circundante a la fase lipídica sea isotónica con la sangre, o polímeros que modifican la superficie de los liposomas.

Se ha establecido que pueden añadirse cantidades apreciables de xenón a una emulsión lipídica. Incluso por los medios más simples, a 20°C y a presión normal, el xenón puede disolverse o dispersarse a concentraciones de 0,2 a 10 ml o más por ml de emulsión.

La concentración de gas disuelto depende de varios factores, incluyendo la temperatura, la presión y la concentración de lípido.

Las emulsiones lipídicas de la presente invención pueden cargarse con xenón gaseoso. En general, se llena un dispositivo con la emulsión y anestésicos en forma de gases o vapores se pasan a través de burbujeadores de vidrio sinterizado sumergidos en la emulsión. Se deja que la emulsión se equilibre con el gas o vapor anestésico a una presión parcial seleccionada. En el caso de que se almacene en recipientes herméticos para gas, estas emulsiones lipídicas muestran estabilidad suficiente para que el anestésico no resulte liberado en forma de gas durante los periodos de almacenamiento convencionales.

Las emulsiones lipídicas de la presente invención pueden cargarse de manera que el xenón se encuentre al nivel de saturación. Alternativamente, el xenón puede encontrarse presente a concentraciones más bajas, con la condición, por ejemplo, de que la administración de la emulsión produzca la actividad farmacéutica deseada.

La concentración de xenón utilizada en la invención puede ser la concentración mínima necesaria para alcanzar el efecto clínico deseado. Es habitual que el médico determine la dosis real que resultará más adecuada para el paciente individual, y esta dosis variará según la edad, peso y respuesta del paciente particular. Evidentemente, pueden existir casos individuales en los que resulten adecuados intervalos de dosis más altos o más bajos, y estos casos se encuentran comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a la temporización de la administración del xenón.

En una forma de realización preferida, el xenón se administra en dicho mamífero previamente al inicio de la CPB y durante la misma.

En otra forma de realización preferida, el xenón se administra tras la conclusión de la CPB.

En una forma de realización, el xenón se administra por lo menos durante el periodo de la CPB, es decir, mientras el paciente se encuentra conectado a la máquina cardiopulmonar y se inicia la administración del xenón antes de la CPB y/o se continúa durante un periodo tras concluir la CPB. Resulta preferente que la administración del xenón se produzca tanto antes como durante la CPB. En todas las formas de realización, la administración opcionalmente puede continuarse tras la conclusión de la CPB.

En una forma de realización especialmente preferida de la invención, se administra xenón en el mamífero:

- (i) antes del inicio de la CPB,
- (ii) durante la CPB, y
- (iii) tras la conclusión de la CPB.

Con mayor detalle, las etapas anteriores, simultáneas y posteriores a la CPB son las siguientes. Tras la esternotomía, el paciente se anticoagula sistémicamente y se canulan la aurícula derecha y la aorta. Tras la canulación, se desvía sangre venosa del corazón y los pulmones y se devuelve al circuito de la CPB para la oxigenación, la extracción del dióxido de carbono y la administración de xenón. Tras concluir la CPB, el paciente se descanula y se invierte la anticoagulación sistémica. Tras conseguir la homeostasis, se cierra el esternón.

## ES 2 323 582 T3

Preferentemente, el xenón se administra antes de iniciarse la CPB, durante la cirugía preparatoria, por ejemplo durante la esternotomía y/o mientras el paciente se anticoagula sistémicamente y se canulan la aurícula derecha y la aorta.

5 Preferentemente, el xenón se administra en la etapa (iii), tras reiniciar el corazón y/o durante las etapas finales de la cirugía. En una forma de realización preferente, el xenón se administra al concluir la CPB, tras descanular el paciente e invertirse la anticoagulación sistémica y/o tras alcanzar la homeostasis y cerrar el esternón.

10 En una forma de realización particularmente preferida de la invención, se controla la temperatura del mamífero en el que se administra el xenón. Preferentemente la temperatura se reduce hasta un nivel inferior a la temperatura corporal normal. Típicamente la temperatura se reduce entre aproximadamente 1°C y aproximadamente 10°C, más preferentemente entre aproximadamente 1°C y aproximadamente 5°C inferiores a la temperatura corporal normal.

15 Un tercer aspecto de la invención se refiere al control de uno o más déficits neurológicos asociados a la CPB en un mamífero, comprendiendo dicho procedimiento las etapas siguientes:

- (i) administrar xenón en dicho mamífero antes del inicio de la CPB,
- (ii) administrar xenón en dicho mamífero durante la CPB, y
- (iii) administrar xenón en dicho mamífero tras la conclusión de la CPB.

20 Las formas de realización preferidas para el segundo y tercer aspectos de la invención son idénticas a las descritas anteriormente para el primer aspecto.

Preferentemente, el xenón se administra en la etapa (i) por inhalación o por inyección intravenosa, más preferentemente por inhalación.

30 Preferentemente, el xenón se administra en la etapa (iii) por inhalación o por inyección intravenosa, más preferentemente por inhalación.

35 Preferentemente, la etapa (ii) comprende administrar xenón en el mamífero por perfusión utilizando una máquina cardiopulmonar especializada.

La presente invención también resulta aplicable al tratamiento de animales. A este respecto, la invención se refiere además a la utilización de xenón en combinación con un diluyente, excipiente o portador veterinariamente aceptable.

40 Para la utilización veterinaria, el xenón se administra típicamente según la práctica veterinaria normal y el cirujano veterinario determinará el régimen de dosificación y la vía de administración que resulten más apropiados para el animal particular.

45 Preferentemente, el xenón se administra en combinación con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Todavía más preferentemente, el xenón reduce el nivel de activación del receptor de NMDA.

50 La presente invención se describe adicionalmente mediante ejemplos y haciendo referencia a las figuras siguientes, en las que:

la figura 1 muestra un diagrama esquemático del protocolo experimental. Se evaluó el resultado neurológico tras la CPB utilizando ensayos funcionales estandarizados. El resultado neurocognitivo, definido como el tiempo (o latencia) hasta encontrar una plataforma sumergida en un laberinto acuático de Morris (un indicador del aprendizaje y memoria visual-espacial) se evaluó diariamente entre los días 3 y 12 posteriores a la CPB.

55 La figura 2 muestra un diagrama esquemático del modelo de CPB en la rata y del sistema de administración de gas xenón.

60 La figura 3 muestra las puntuaciones funcionales neuromotoras tras 24 horas, 72 horas y 12 días para los grupos de tratamiento simulado, sometido a CPB, a CPB+MK801 y a CPB+Xe.

65 La figura 4 muestra el resultado neurocognitivo según la evaluación diaria (días 3 a 12) posterior a la derivación cardiopulmonar (CPB) del aprendizaje y memoria visual-espacial utilizando el laberinto acuático de Morris. Los resultados son de sumas de cuatro latencias para cada rata en cada día (se define la latencia como el tiempo para que los animales encuentren la plataforma sumergida partiendo de un cuadrante diferente en cada ensayo). Los datos son medias  $\pm$  SEM, con n=10). La ANOVA muestra que los grupos de tratamiento simulado, sometido a CPB+MK801 o a CPB+Xe presentan diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo CPB, respectivamente (CPB vs. tratamiento simulado: F=18,2, p<0,0001; CPB vs. CPB+MK801: F=20,7, p<0,0001; CPB vs. CPB+Xe:

## ES 2 323 582 T3

F=21,6, p<0,0001). El análisis de mediciones repetidas con el ensayo de Student-Newman-Keuls, seguido del análisis de la varianza, mostró diferencias significativas en comparación con el grupo CPB en los días 3 y 4 después de la CPB.

5 La figura 5 muestra la velocidad de natación durante el ensayo de laberinto acuático de Morris para el grupos de tratamiento simulado, sometido a CPB, a CPB+MK801 y a CPB+Xe. Las velocidades de natación registradas por un sistema de seguimiento en vídeo computerizado medidas diariamente (3 a 12 días después de la CPB) no fueron diferentes entre grupos. Por lo tanto, las diferencias de latencias (ver la figura 4) se deben a perturbaciones cognitivas y no a déficits motores.

10 La figura 6 muestra los efectos del xenón como neuroprotector a la temperatura corporal normal (37°C) y a temperatura más baja (33°C). En más detalle, la figura 6 muestra la liberación (normalizada) de LDH frente a la concentración de xenón (% atm.) a cada temperatura.

### Ejemplos

15 *Preparación quirúrgica y derivación cardiopulmonar (CPB)*

La metodología del modelo de CPB utilizada en el presente estudio ha sido informada con anterioridad (Anesthesiology 95:1485-91, 2001). Brevemente, se indujo anestesia en ratas Sprague-Dawley macho (de 12 a 14 semanas de edad, 350 a 380 g; Harlan, Indianapolis, IN) con isoflurano al 5% en aire enriquecido en oxígeno en una caja de plástico. Tras la intubación intratraqueal con una cánula de calibre 14, se ventilaron mecánicamente los pulmones (40% de O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub> de equilibrio) para mantener una PaCO<sub>2</sub> de 36 a 42 mmHg. Durante la preparación quirúrgica, se mantuvo la anestesia con isoflurano al 2,0-2,5% y se realizó el seguimiento de las temperaturas rectal y pericraneal y se servo-controlaron a 37,5 ± 0,1°C (termistor de serie YSI 400 y controlador indicador 73ATA; YSI, Yellow Springs, OH) con una manta calefactora y un sistema calefactor de aire forzado convectivo. Se canuló la arteria epigástrica caudal superficial, una rama de una arteria femoral, con tubo PE-10 para realizar el seguimiento de la presión arterial media (MAP). Durante la derivación cardiopulmonar (CPB), las ratas se anestesiaron con fentanilo (30 µg/kg, i.v.), midazolam (0,4 mg/kg, i.v.) y atracurium (0,5 mg/kg, i.v.) en forma de bolo de inyección, seguido de una infusión continua de la mezcla de los tres con una bomba de jeringa (2,5 µg/kg/minuto para el fentanilo, 0,03 mg/kg/minuto para el midazolam y 0,08 mg/kg/minuto para el atracurium). Los estudios piloto habían confirmado que, con este régimen anestésico, los animales presentaban suficiente profundidad de anestesia durante la CPB. Se drenó sangre a través de una cánula multiorificio de 4,5 Fr insertada en la vena yugular interna mediante una incisión en el cuello y que se había hecho avanzar hasta que la punta de la cánula se encontraba próxima a la unión de la vena cava inferior y la aurícula derecha. Se hizo retornar la sangre del circuito de la CPB mediante un catéter de 1,1 pulgadas de calibre 20 situado en una arteria de la cola ventral (lado ventral).

El circuito de la CPB (figura 2) consistía de un reservorio venoso, una bomba peristáltica y un oxigenador de membrana, todos los cuales se encontraban conectados mediante tubo de silicona de 1,6 mm de diámetro interno (Tygon®; Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, IL). Se cebó el circuito de la CPB con aproximadamente 40 ml de sangre completa obtenida previamente al inicio del experimento a partir de dos ratas donantes (275 a 320 g) heparinizadas (100 IU/rata, i.v.) que se exsanguinaron bajo anestesia con isoflurano. La sangre drenada atravesó un reservorio venoso caliente (con camisa de agua circulante procedente de una bomba de calor) hasta una bomba peristáltica (Masterflex®, Cole-Parmer Instrument Co., Vernon Hills, IL) y después hasta un oxigenador de membrana (un oxigenador neonatal Cobe Micro® modificado con un área superficial de 0,33 m<sup>2</sup>; Cobe Cardiovascular, Inc., Arvada, CO). Un sistema de alimentación de gas de circuito cerrado proporcionó la cantidad apropiada de gas al oxigenador, después de lo cual se infundió la sangre en la rata. Se utilizó una sonda de flujo en línea (sonda de flujo 2N806 y caudalímetro volumétrico T208; Transonics Systems, Inc., Ithaca, NY) para medir en continuo el flujo de la CPB. Se mantuvo la temperatura del flujo de entrada de la línea arterial a 37,5°C utilizando un sistema de baño de agua circulante. Se midió en continuo la saturación de oxígeno venoso de la línea de retorno venoso utilizando un monitor Oximetrix® y un catéter Opticath® (Abbot Laboratories, North Chicago, IL). Se analizaron los gases en sangre utilizando un analizador de gases en sangre IL 1306 (Instrument Laboratories, Inc., Lexington, MA), determinando la hemoglobina con un Hemoximeter® OSM3 (Radiometer Inc., Copenhagen, Dinamarca).

### Protocolo experimental

55 Tras completar todos los procedimientos quirúrgicos tal como se ha descrito anteriormente, las ratas se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos. Grupo de tratamiento simulado: las ratas (n=10) se sometieron a 60 minutos de CPB no pulsátil con un oxigenador de membrana que recibía una mezcla de 30% de O<sub>2</sub> y 65% de N<sub>2</sub>. Grupo CPB+MK801: las ratas (n=10) recibieron MK801 (0,15 mg/kg, i.v.) 15 minutos antes de 60 minutos de CPB con concentraciones de gases similares a las del grupo 2. Se seleccionó la dosis de MK801 a partir de estudios piloto, en la que el efecto secundario de la misma puede mantenerse a un nivel mínimo. Grupo CPB+Xenón: las ratas (n=10) se sometieron a 60 minutos de CPB con un oxigenador de membrana que recibía una mezcla de 30% de O<sub>2</sub> y 60% de xenón.

### Parámetros fisiológicos

65 No se observaron diferencias significativas en la presión arterial media ni en los caudales en los tres grupos de CPB. Las mediciones de pH y de gases en sangre se mantuvieron dentro de los límites normales durante todo el experimento. Durante la CPB, la saturación de oxígeno venoso mezclada muestreada en el reservorio venoso era más

baja de lo normal, sin diferencias significativas entre los tres grupos de CPB. La hemoglobina se redujo gradualmente en el grupo de tratamiento simulado (posiblemente debido al muestreo de la sangre), mientras que en cada uno de los tres grupos de CPB se incrementó gradualmente hasta un nivel próximo al basal 120 minutos después de la CPB, sin diferencias significativas entre los tres grupos sometidos a CPB. No se observaron diferencias significativas para la glucosa sanguínea entre los cuatro grupos. Las temperaturas rectal y pericraneal se mantuvieron muy próximas a 37,5°C excepto durante un periodo breve 10 a 20 minutos después de iniciar la CPB (probablemente debido a la infusión de sangre relativamente fría procedente del circuito); no se observaron diferencias significativas entre los tres grupos de CPB. El peso corporal de los animales se redujo hasta un peso nadir en el día 3° del postoperatorio; después se incrementó hasta superar la línea base finalizado el experimento el 12° día postoperatorio. No se encontraron diferencias entre los cuatro grupos para el peso.

#### *Ensayo neurológico y neurocognitivo*

En el 1°, 3° y 12° día postoperatorio, todos los animales se sometieron a ensayos neurológicos funcionales estandarizados utilizando un protocolo establecido que incluía ensayos de tracción prensil, resistencia y rendimiento en barra de equilibrio que se gradaron en una escala de cero a nueve (mejor puntuación=9) (Combs, D., D'Alecy, L.: Motor performance in rats exposed to severe forebrain ischemia: Effect of fasting and 1,3-butanediol, *Stroke* 18:503-511, 1987; Gionet, T., Thomas, J., Warner, D., Goodlett, C., Wasserman, E., West, J.: Forebrain ischemia induces selective behavioral impairments associated with hippocampal injury in rats, *Stroke* 22:1040-1047, 1991).

Además de la evaluación neurológica, un investigador ciego para la asignación de grupo instituyó un ensayo de comportamiento con el laberinto acuático de Morris utilizando un sistema de seguimiento por vídeo computerizado (Etho Vision®, Noldus, Wageningen, Países Bajos) para evaluar el resultado neurocognitivo el tercer día postoperatorio (Morris, R.: Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat, *J. Neurosci. Methods* 11:47-60, 1984). Brevemente, el laberinto acuático de Morris consistía de una piscina de agua de 1,5 metros de diámetro y 30 cm de profundidad (26,5 ± 0,2°C) con una plataforma oculta sumergida (un centímetro bajo la superficie) en un cuadrante. Las ratas se introdujeron en el agua en una sala iluminada tenuemente con múltiples pistas visuales exteriores al laberinto. Se midió el tiempo utilizado para localizar la plataforma sumergida (definido como latencia) para someter a ensayo las alteraciones del aprendizaje y memoria visual-espacial. Las ratas se sometieron a ensayos diarios en el laberinto acuático con cuatro ensayos por periodo experimental, limitando cada uno a una exposición al agua de 90 segundos. Cada uno de los ensayos se inició desde un cuadrante separado. Se repitió consecutivamente el ensayo durante 10 días.

#### *Cambios generales de comportamiento*

Todos los animales que habían recibido MK801 mostraron hiperactividad, balanceo de cabeza y alteraciones relacionadas de la coordinación motora que duraron 1 a 2 horas tras emerger de la anestesia. Todos los animales fueron capaces de beber y comer tras la emergencia.

#### *Ensayo funcional neuromotor*

El grupo de CPB presentó un resultado neurológico peor comparado con el grupo simuladamente tratado o el grupo de CPB+xenón el primer y tercer días postoperatorios [el primer día: 5,2 ± 1,5 vs. 7,6 ± 0,8 (p<0,01) ó 8,3 ± 0,5 (p<0,001); el tercer día: 5,8 ± 1,8 vs. 8,3 ± 0,7 (p<0,05) ó 8,9 ± 0,2 (p<0,001)], pero no se observó ninguna diferencia entre el grupo de CPB y el grupo de CPB+MK801 (el primer día: 5,2 ± 1,5 vs. 6,2 ± 1,4, p>0,05; el tercer día: 5,8 ± 1,8 vs. 7,4 vs. ± 1,8, p>0,05). El duodécimo día postoperatorio, no se observó ninguna diferencia entre los cuatro grupos (figura 3). El análisis cualitativo de los componentes individuales en el ensayo neurológico funcional sugirió que dicha diferencia era atribuible predominantemente a rendimientos peores en la barra de equilibrio y de capacidad de tracción prensil (datos no mostrados).

#### *Ensayo en laboratorio acuático de Morris*

Las latencias, que indican el tiempo que tardan los animales en encontrar la plataforma, basadas en cuatro ensayos cada día, fueron más grandes en el grupo de CPB comparado con los grupos simuladamente tratado, CPB+MK801 y CPB+Xe.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa al comparar cada grupo con el grupo de CPB (CPB vs. tratamiento simulado: F=18,2, p<0,0001; CPB vs. CPB+MK801: F=20,7, p<0,0001; CPB vs. CPB+Xe: F=21,6, p<0,0001). Las mediciones repetidas con la prueba de Student-Newman-Keuls mostraron una diferencia significativa en comparación con el grupo de CPB el tercer y cuarto días postoperatorios (figura 4). Las velocidades de natación variaron entre 4,7 y 6,2 pulgadas/segundo durante los 10 días postoperatorios y no se encontraron diferencias significativas en los tiempos correspondientes entre los cuatro grupos (figura 5).

Los resultados anteriores indican claramente que la administración de xenón durante la CPB proporciona una protección significativa frente a los déficits neurocognitivos y neuromotores que siguen a la cirugía de derivación.

## ES 2 323 582 T3

### *Estudios de variación de temperatura*

Se investigaron los efectos del xenón como neuroprotector a temperatura corporal normal (37°C) y a una temperatura inferior (33°C), por ejemplo la que puede producirse durante la CPB. El estudio se basó en la medición de la liberación de LDH de un cocultivo neuronal/glial de ratón de acuerdo con el procedimiento descrito en la patente WO n° 01/08692 (a nombre del Imperial College of Science, Technology and Medicine).

Los datos demuestran que el xenón reduce la liberación de LDH de un cocultivo neuronal/glial de ratón muy efectivamente a 37°C, pero inesperadamente más efectivamente a 33°C. Efectivamente el xenón presenta una EC<sub>50</sub> de 35,9 ± 2,2% a 37°C pero sólo de 11,5 ± 2,0% a 33°C. Esta eficacia incrementada es inesperadamente más alta que la predicha meramente basándose en simple química física; en otras palabras, la eficacia incrementada es mucho más alta que la atribuible al incremento esperado de afinidad de unión del xenón a las dianas del mismo a temperaturas inferiores.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Utilización de xenón en la preparación de un medicamento destinado al control de uno o más déficits neurológicos asociados a la CPB, en la que se administra el xenón antes de iniciar la CPB y durante la CPB (derivación cardiopulmonar).
2. Utilización según la reivindicación 1, en la que el déficit neurológico es un déficit neuromotor o neurocognitivo.
- 10 3. Utilización según la reivindicación 1 ó 2, en la que dicho control implica reducir la severidad de uno o más déficits neurológicos comparado con un sujeto que ha sido sometido a CPB en ausencia de xenón.
4. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el xenón se mezcla con un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 5. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el xenón se administra por perfusión.
6. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en la que el xenón se administra por inhalación.
- 20 7. Utilización según la reivindicación 6, en la que el xenón se encuentra en forma de una mezcla de xenón/oxígeno de entre el 70% y el 30% v/v.
8. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en la que el xenón se administra en forma de una solución o de una emulsión.
- 25 9. Utilización según la reivindicación 8, en la que la solución o emulsión se administra por vía intravenosa.
10. Utilización según la reivindicación 8 ó 9, en la que el xenón se encuentra en forma de una emulsión lipídica.
- 30 11. Utilización según la reivindicación 1, en la que el xenón se administra en combinación con uno o más agentes anestésicos o sedantes que estimulan la actividad GABAérgica.
12. Utilización según la reivindicación 1, en la que el xenón se administra en combinación con isoflurano.
- 35 13. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que el xenón se administra al mamífero:
- (i) antes de iniciar la CPB,
  - (ii) durante la CPB; y
  - (iii) tras la conclusión de la CPB.
- 40 14. Utilización según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en la que se administra xenón antes de iniciar la CPB, durante la cirugía preparatoria.
- 45 15. Utilización según la reivindicación 13 ó 14, en la que se administra xenón tras reiniciar el corazón y/o durante las etapas finales de la cirugía.
- 50 16. Utilización según la reivindicación 13, en la que el xenón se administra independientemente en la etapa (i) y en la etapa (iii) por inhalación o por inyección intravenosa.
17. Utilización según la reivindicación 13, en la que el xenón se administra en la etapa (ii) por perfusión utilizando una máquina cardiopulmonar especializada.

55

60

65

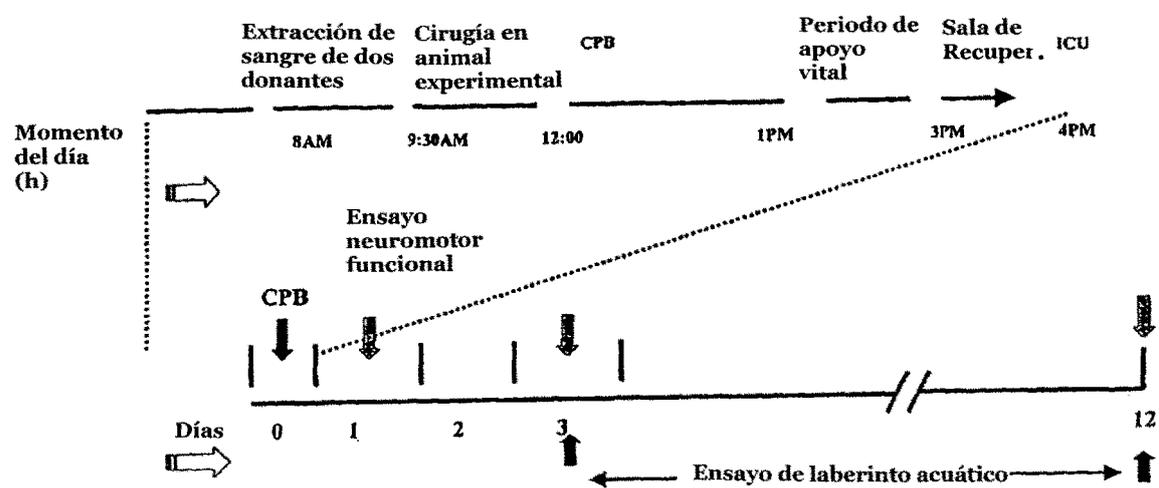
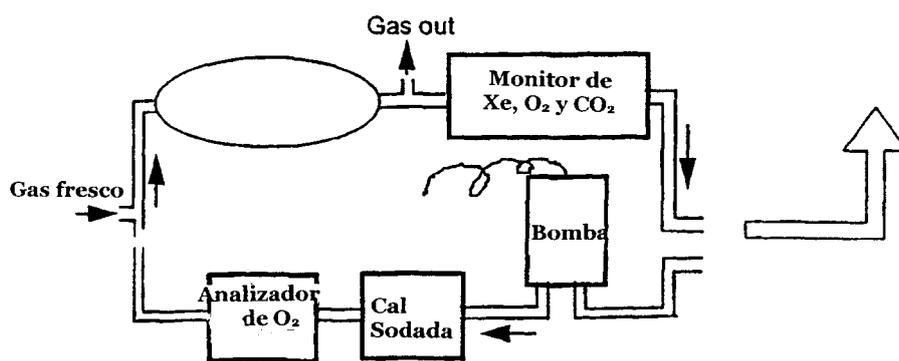
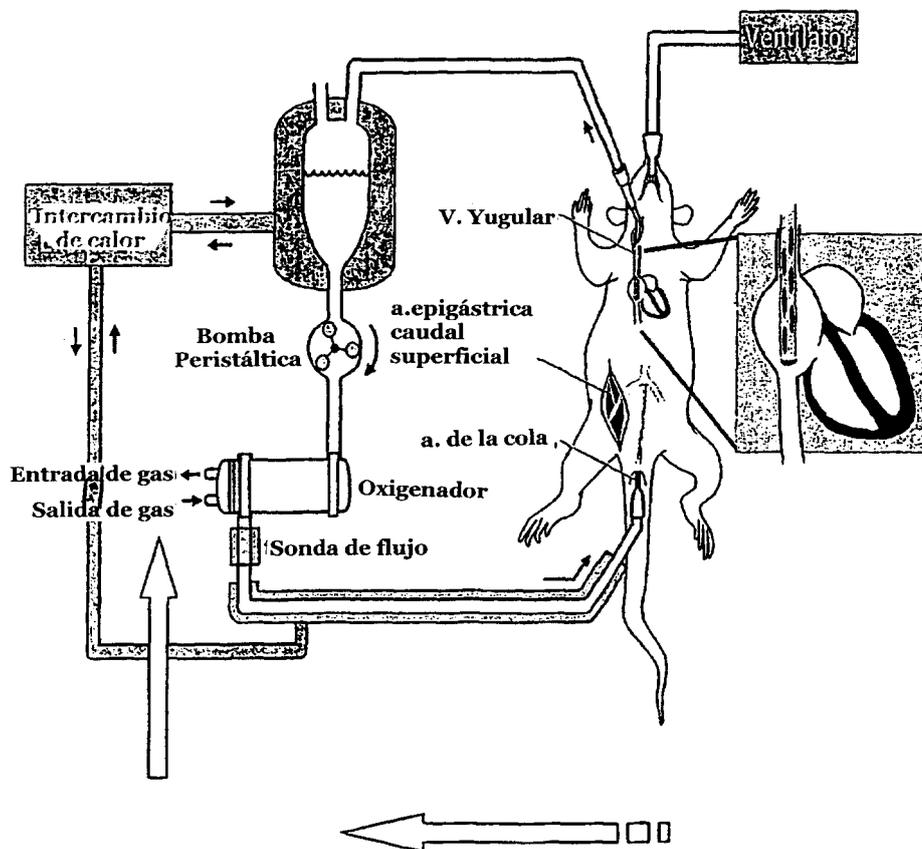


Figura 1



**Figura 2**

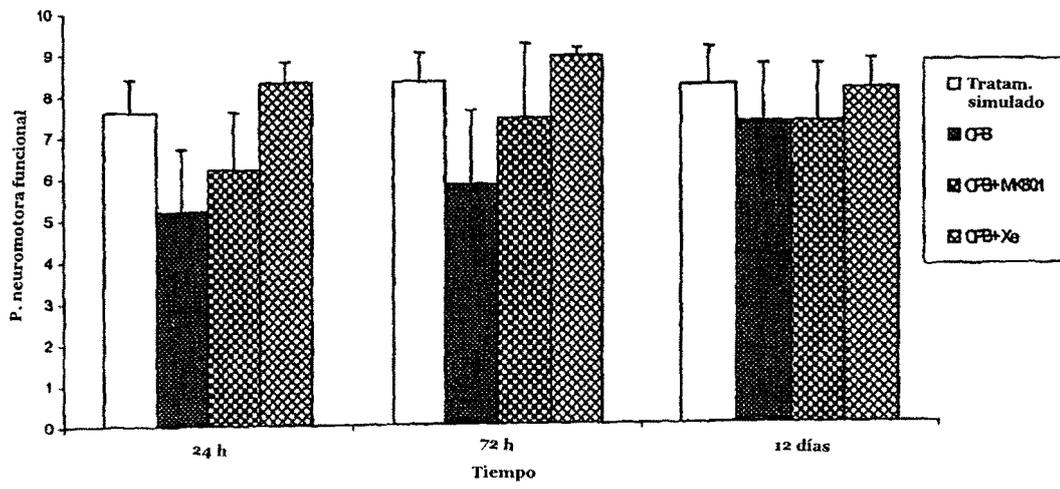


Figura 3

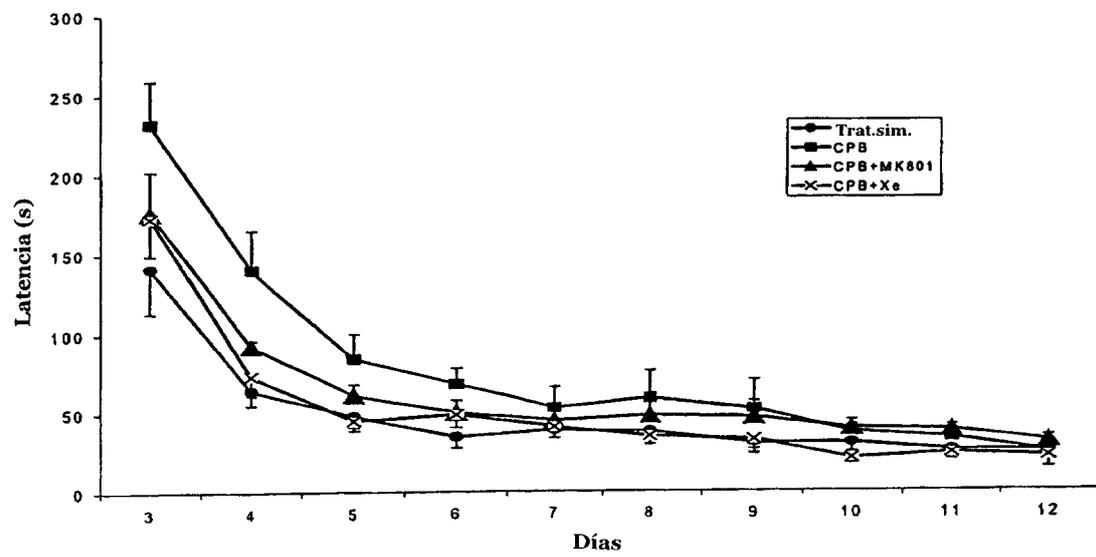


Figura 4

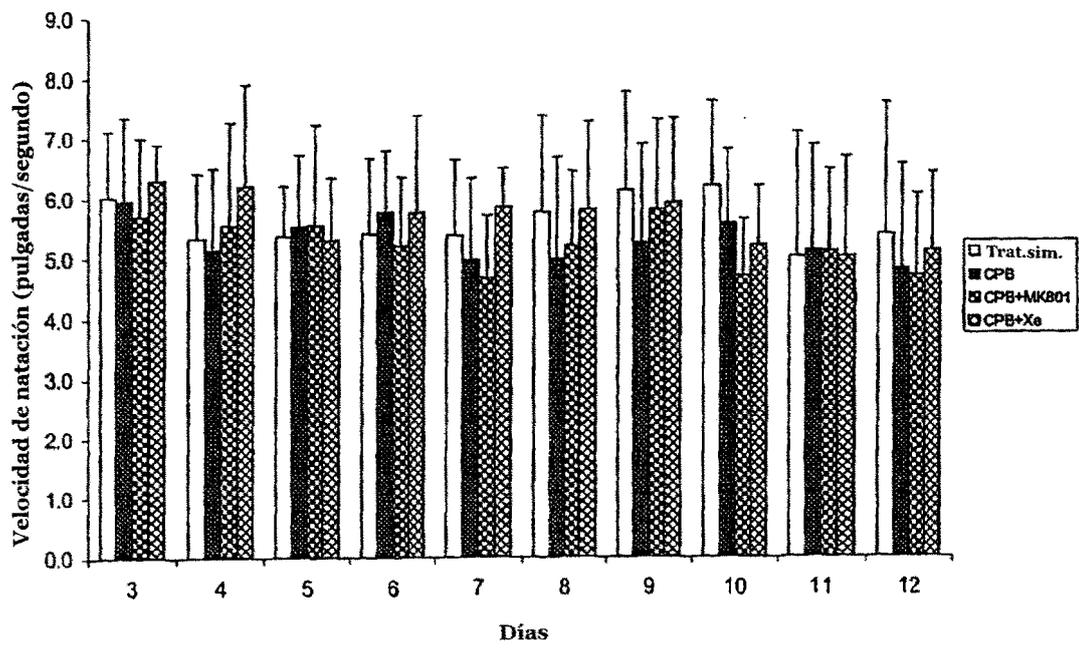


Figura 5

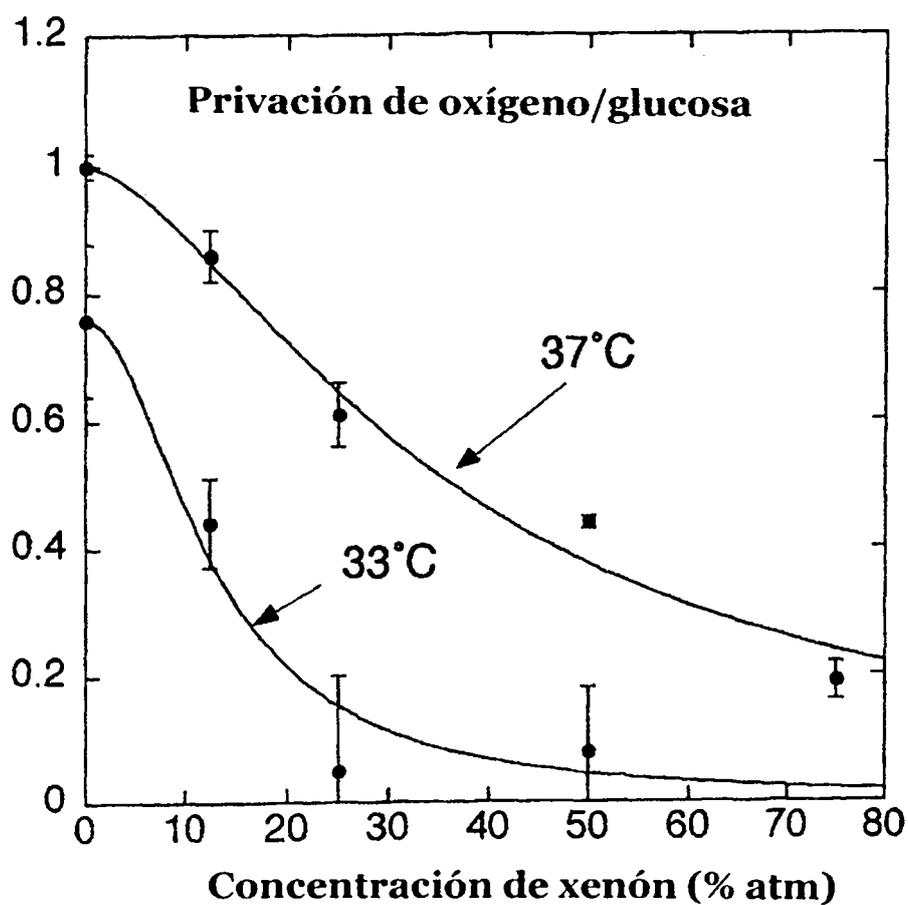


Figura 6