



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 432**

51 Int. Cl.:
A61K 31/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05811366 .3**
96 Fecha de presentación : **01.12.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1830827**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **12.09.2007**

54 Título: **Perfluorocarbonos líquidos para eliminar carcinógenos.**

30 Prioridad: **02.12.2004 GB 0426489**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
05.07.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
05.07.2011

73 Titular/es: **Kaizen Robert Matsumoto**
18 Chelsea Reach Tower
Worlds End Estate, Chelsea
London SW10 0EG, GB

72 Inventor/es: **Matsumoto, Kaizen Robert**

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 362 432 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

Perfluorocarbonos líquidos para eliminar carcinógenos

5 La invención se refiere al uso de perfluorocarbonos líquidos, como solventes de carcinógenos, en medicamentos para la eliminación profiláctica de carcinógenos de células no cancerosas, para reducir el riesgo de transformación cancerosa de las células.

Antecedentes de la invención

10 Se sabe que los carcinógenos se acumulan en el ambiente lipófilo de las membranas celulares. Estos carcinógenos acumulados representan un depósito carcinogénico que aumenta el riesgo de que las células se vuelvan cancerosas. El uso de un solvente de carcinógenos puede disminuir el riesgo de la transformación cancerosa de la célula [1].

15 Aumentar la lipofilia aumenta el potencial carcinogénico del carcinógeno, puesto que el carcinógeno está presente en la célula durante un período más prolongado y no es eliminado [2].

20 Los carcinógenos se acumulan dentro de las membranas celulares debido a un mecanismo de partición pasiva, los carcinógenos son moléculas orgánicas grandes y por consiguiente lipófilas, y la membrana celular es a base de fosfolípidos y por lo tanto también lipófila [3].

Este principio de partición pasiva se usó para explicar la acumulación y la localización de carcinógenos lipófilos dentro de las membranas celulares [4].

25 Este mecanismo de partición pasiva depende de los volúmenes relativos y de la lipofilia del solvente externo y de las membranas celulares [4].

30 El principio de partición pasiva también explicó cómo los compuestos químicos lipófilos podían ser extraídos de las membranas celulares usando lipoproteínas en solución acuosa. Las lipoproteínas son proteínas con porciones de lípidos; las porciones de lípidos crean un ambiente lipófilo en el cual se pueden disolver los carcinógenos lipófilos, y por lo tanto las lipoproteínas actúan como solventes de carcinógenos [5].

35 La exposición de membranas celulares con carcinógenos disueltos intracelularmente a esas soluciones de lipoproteínas altera la relación entre los volúmenes relativos y la lipofilia del ambiente intracelular y el ambiente extracelular. Si el ambiente extracelular, es decir las soluciones de lipoproteínas, es suficientemente lipófilo, los carcinógenos disueltos intracelularmente se repartirán pasivamente fuera de las células y dentro de la solución extracelular de lipoproteínas, actuando como un solvente de carcinógenos.

40 Este proceso de extracción fue demostrado primero y únicamente en 1981 por Remsen y Shireman [5].

45 El experimento demostró que benzo(a)pireno, un carcinógeno ambiental común, podía ser extraído con diversas soluciones de lipoproteínas a diferente concentración, también es una demostración exclusiva del experimento la eliminación de las membranas celulares de carcinógenos disueltos internamente, usando soluciones de lipoproteínas como solventes de carcinógenos.

Descripción de la invención

50 Esta invención describe como la clase de productos químicos conocida como perfluorocarbonos líquidos se puede usar de manera similar a las lipoproteínas, es decir como solventes de carcinógenos, en la eliminación de carcinógenos disueltos dentro de las células del organismo. La eliminación de compuestos carcinógenos de las células reduce el riesgo de transformación cancerosa de las células. Ningún otro medio de extracción, es decir solvente de carcinógenos, aparte de las soluciones acuosas de lipoproteínas y los perfluorocarbonos líquidos, es conocido en el área ni ha sido informado como potencial solvente de carcinógenos extracelulares para estos carcinógenos lipófilos.

55 La invención se refiere al uso de perfluorocarbonos líquidos como solventes de carcinógenos en la fabricación de un medicamento para usar in vivo a fin de disminuir el riesgo de transformación cancerosa de una célula, donde la célula se expone al solvente durante al menos una hora.

60 Los perfluorocarbonos líquidos son una clase de productos químicos definida como cualquier hidrocarburo en el que todos los átomos de hidrógeno han sido sustituidos por un átomo de la familia de los halógenos como flúor, cloro o bromo.

La presencia de los átomos de halógeno grandes hace a todos los perfluorocarbonos líquidos inherentemente lipófilos y por lo tanto capaces de disolver carcinógenos lipófilos de las membranas celulares, y son usados en esta invención

como solventes de carcinógenos.

Se conocen varios perfluorocarbonos en la bibliografía, y son considerados adecuados para esta invención, puesto que todos los perfluorocarbonos son inherentemente lipófilos.

Las propiedades fundamentales requeridas por un perfluorocarbono para ser usado en esta invención como un solvente de carcinógenos, es que el perfluorocarbono debe ser líquido y debe ser lipófilo.

Ejemplos

Dos perfluorocarbonos líquidos, bromuro de perfluorooctilo y perfluorodecalina, fueron analizados en cuanto a su capacidad para eliminar un carcinógeno modelo, benzo(a)pireno, de fibroblastos humanos. El compuesto químico utilizado, benzo(a)pireno es un carcinógeno ambiental, producido en la combustión incompleta de materiales orgánicos. Es un carcinógeno lipófilo, generalmente considerado como un buen modelo para el comportamiento de otros carcinógenos lipófilos [5].

Se expusieron células a benzo(a)pireno radiomarcado y después de la exposición las células se lavaron con solución amortiguadora. A continuación las células se expusieron al perfluorocarbono líquido. Se extrajeron alícuotas del perfluorocarbono líquido a intervalos y se midió la radioactividad con un contador de centelleo. Después de 120 minutos las células se analizaron para determinar la integridad de la membrana con un colorante vital, y se encontró que la membrana y las células eran viables, por más referencias sobre el efecto biológico de los perfluorocarbonos sobre las bicapas de fosfolípidos véase Lack of effect of perfluorooctylbromide on phospholipid bilayers, [6].

Luego de esto, las células se disolvieron en ácido y se midió la radioactividad remanente en las células en un contador de centelleo. Estas mediciones se usaron después para calcular la extracción relativa de carcinógeno en términos de porcentaje en función del tiempo de exposición al perfluorocarbono líquido.

Los perfluorocarbonos fueron capaces de eliminar entre 50% y 65% del benzo(a)pireno en una exposición de 80 minutos, véase la figura 1/1, en comparación con la solución de lipoproteínas que eliminó 43% y el medio de cultivo que eliminó 5%, no se muestran los datos.

Aunque el tipo de célula utilizado para esta extracción in vitro fue un tipo de célula pulmonar humana, se considera que la invención funcionará en cualquier tipo de célula, de cualquier organismo, puesto que todas las membranas celulares tienen propiedades lipófilas semejantes. Las membranas de las células son necesariamente lipófilas porque están constituidas por fosfolípidos, donde las porciones de lípidos forman el espacio intra membrana.

Esta invención describe por lo tanto que los perfluorocarbonos líquidos, bromuro de perfluorooctilo, perfluorodecalina y los perfluorocarbonos líquidos en general, se pueden usar como solventes de carcinógenos biológicamente compatibles en una formulación de un medicamento para la eliminación de carcinógenos de las células. Las células que se van a tratar necesitan ser expuestas al medicamento de perfluorocarbono líquido durante al menos una hora, para que los carcinógenos se equilibren entre el ambiente intracelular y el solvente de carcinógenos extracelular, en el caso de esta invención un perfluorocarbono líquido biológicamente inerte. Luego de lograr el equilibrio del carcinógeno entre el solvente de carcinógenos perfluorocarbono extracelular y el ambiente intracelular, el perfluorocarbono líquido se puede extraer y de este modo efectuar la eliminación de los carcinógenos de las células.

Criterios para elegir perfluorocarbonos líquidos adecuados para usar en esta invención.

Lipofilia

Los perfluorocarbonos considerados adecuados para esta invención deberían ser lipófilos y generalmente insolubles en agua. Esto es cierto para todos los perfluorocarbonos, la sustitución de átomos de hidrógeno por átomos de halógeno produce la elevada lipofilia de los perfluorocarbonos líquidos.

Punto de ebullición

El perfluorocarbono utilizado debería ser líquido a la temperatura normal del organismo, para que las células puedan ser expuestas a la forma líquida del perfluorocarbono sin inducir un choque de temperatura. Asimismo, un perfluorocarbono gas no puede actuar como un solvente de carcinógenos.

Compatibilidad biológica

El perfluorocarbono utilizado también debería ser atóxico para la célula; esto es cierto para casi todos los perfluorocarbonos líquidos, y cierto para los ejemplos utilizados, bromuro de perfluorooctilo y perfluorodecalina.

Los perfluorocarbonos líquidos conocidos adecuados para usar en el organismo humano, y considerados como candidatos probados/obvios para usar en esta invención incluyen:

- 5 Perfluorodecalina (F2 chemicals limited),
- Bromuro de perfluorooctilo (Exfluor research corporation),
- FC-84 (Fluorinert™ 3M corporation),
- 10 FC-72 (Fluorinert™ 3M corporation),
- FC-75 (Fluorinert™ 3M corporation),
- 15 RM-82 (Perflutel™ Miteni corporation),
- RM-101 (Perflutel™ Miteni corporation),

20 Esta lista no es exhaustiva y varios otros perfluorocarbonos líquidos fueron probados para uso médico en humanos y pueden ser considerados adecuados para esta invención, si cumplen el criterio de lipofilia. Los expertos en el área de los medicamentos de perfluorocarbono entenderán que puesto que los perfluorocarbonos líquidos son inherentemente lipófilos, prácticamente cualquier perfluorocarbono líquido existente puede ser utilizado como solvente de carcinógenos en la eliminación de carcinógenos disueltos intracelularmente.

25 Duración de la exposición

Como describe la invención, las células que necesitan eliminación de carcinógenos deberían estar expuestas durante al menos una hora, preferentemente de ochenta a cien minutos, para que los carcinógenos se equilibren entre el ambiente intracelular y el medicamento de perfluorocarbono.

30 Luego de la exposición de las células al medicamento de perfluorocarbono, este medicamento debe ser extraído, y de esa manera los carcinógenos eliminados permanentemente de las células. Si el perfluorocarbono se deja evaporar los carcinógenos volverán a ingresar en las células, puesto que el ambiente extracelular puede disolverlos más tiempo.

35 Antecedentes de los perfluorocarbonos

Los perfluorocarbonos líquidos son medicamentos conocidos con diversas propiedades que los hacen adecuados para usar en el organismo humano.

40 Los perfluorocarbonos son inodoros, incoloros y biológicamente inertes. Sus bajas temperaturas de ebullición y su elevada volatilidad dan a entender que no se acumulan en el organismo. Su extremadamente baja toxicidad da a entender que cualquier perfluorocarbono residual no afectará perjudicialmente al organismo, y su elevada estabilidad química da a entender que no se descompondrán espontáneamente en productos tóxicos. Son biológicamente inertes y no interfieren con las rutas biológicas.

45 Tienen otras varias propiedades que los hacen adecuados para distintas terapias. Se han encontrado varios usos para los perfluorocarbonos desde que se encontró su primer uso como medios de ventilación líquida, estos usos incluyen ventilación líquida, sustitutos de la sangre, agentes de calentamiento por ultrasonido, agentes de lavado pulmonar, cirugía ocular, agentes de administración de fármacos, sustitutos de surfactantes, agentes de contraste radiográficos y agentes de contraste para ultrasonido. Aunque el uso de los perfluorocarbonos líquidos como agentes de lavado pulmonar es parte del estado actual de la técnica, esta invención describe el uso de medicamentos a base de perfluorocarbonos en la eliminación de carcinógenos ya disueltos en las células, no materiales congestivos que no se pueden disolver en las células.

50 Además, en el uso conocido de los perfluorocarbonos líquidos como agentes de lavado pulmonar, el perfluorocarbono sólo se expone brevemente al tejido pulmonar para eliminar materiales congestivos, que son insolubles en el perfluorocarbono líquido. El material congestivo flota en la parte superior del perfluorocarbono líquido de elevada densidad y no se disuelve en el perfluorocarbono líquido.

60 El uso de lavado pulmonar con perfluorocarbono es un uso para cuidados intensivos, cuando la respiración del paciente está inminentemente amenazada por un bloqueo físico en las vías respiratorias. El lavado pulmonar con perfluorocarbono se realiza de manera muy transitoria en la cual el perfluorocarbono líquido se usa únicamente para desplazar el material que bloquea las vías respiratorias; la exposición de las células al perfluorocarbono líquido se mide en segundos y minutos. Esta invención no se refiere a los bloqueos de las vías respiratorias ni al uso para cuidados intensivos de los perfluorocarbonos líquidos. Por otra parte los carcinógenos disueltos intracelularmente no bloquean las

vías respiratorias pulmonares.

Realizaciones preferidas

5 Desintoxicación in vivo

En su realización preferida la invención constituiría un medicamento de perfluorocarbono líquido puro, de perfluorodecalina, bromuro de perfluorooctilo o un perfluorocarbono líquido lipófilo elegido de acuerdo con el criterio establecido, utilizado a través de la exposición de células que necesitan ser desintoxicadas al medicamento de perfluorocarbono durante un período de al menos una hora, preferentemente de ochenta a cien minutos, para que se produzca la máxima eliminación de carcinógenos. Luego de la exposición el medicamento de perfluorocarbono debe ser extraído del órgano como un líquido y no dejarlo para que se evapore. El medicamento de perfluorocarbono se puede aplicar directamente a las células que necesitan la eliminación de carcinógenos. Los métodos y precauciones necesarios para usar medicamentos de perfluorocarbonos en los diversos órganos del organismo son conocidos por los expertos. Se sabe que varios órganos del organismo tienen concentraciones de carcinógenos más altas, y estas mayores concentraciones de carcinógenos pueden dar origen a células cancerosas y tumores. El perfluorocarbono utilizado en el medicamento podría ser cualquiera de los varios perfluorocarbonos con elevada lipofilia conocidos. El perfluorocarbono debería ser por lo demás biológicamente inerte y líquido a la temperatura del tratamiento. En caso de uso humano, el perfluorocarbono debería ser líquido a la temperatura corporal.

Dependiendo del órgano o tejido que se va a exponer, se deberían considerar otras propiedades de los medicamentos de perfluorocarbono. Para usar en el tejido pulmonar, o en órganos internos del organismo, el perfluorocarbono líquido necesitaría ser capaz de disolver grandes cantidades de gases. Los criterios de selección de un perfluorocarbono líquido capaz de ser utilizado en el tejido pulmonar u otros órganos internos del organismo son evidentes y conocidos en el área.

Por una reseña de perfluorocarbonos potencialmente adecuados para usar en el organismo véase Biro. p, Blais P: Perfluorocarbon blood substitutes, CRC critical reviews in oncology/haematology, Vol 6, N°4, p. 311-374, 1987.

Realización de referencia: Diagnóstico

Como el medicamento de perfluorocarbono líquido se recupera, puede ser analizado para cuantificar la presencia de los carcinógenos eliminados. Dicha cuantificación se podría usar como una herramienta de diagnóstico para cuantificar la exposición a largo plazo a diversos carcinógenos y el riesgo actual asociado con esas dosis.

Realización de referencia: Desintoxicación in vitro

Se considera que el medicamento de perfluorocarbono líquido podría usarse en un entorno de laboratorio para eliminar carcinógenos de células en cultivo.

Dicho uso podría ser útil para determinar la dosis eficaz para las células de carcinógenos o determinar la proporción de los carcinógenos metabolizada, y otros usos semejantes.

Para el uso in vitro, el perfluorocarbono líquido deberá únicamente ser lipófilo y líquido a la temperatura a la que se lleva a cabo el experimento.

Bibliografía

[1] High density lipoproteins decrease both binding of a polynuclear aromatic hydrocarbon carcinogen to DNA and carcinogen-initiated cell transformation.

Mutation research, 1983, nov: 11(3):p. 429-439.

D Busbee, W Benedict.

[2] Correlation of the octanol/water partition coefficient with clearance half-times of intratracheally instilled aromatic hydrocarbons in rats.

Toxicology.1985, sep: 36(4) p. 285-295.

J.Bond, S. Baker, W. Bechtold.

[3] Mechanism and rate of permeation of cells by Polycyclic aromatic Hydrocarbons,

The journal of biological chemistry, vol 262, N°6, febrero, 1987, p. 2514-2519.

A.Plant, R. Knapp, L. Smith,

[4] Cellular uptake and intracellular localisation of benzo(a)pyrene by digital fluorescence imaging microscopy, The journal of cell biology, volumen 100, Abril 1985, p. 1295-1308).

5

A Plant, D Benson, L Smith

[5] Removal of benzo(a)pyrene from cells by various components of medium

10 Cancer Letters, 1981 oct:14(l) p. 41-46

J Remsen, R Shireman:

[6] Lack of effect of perfluorooctylbromide on phospholipid bilayers.

15

Biophysical journal (annual meeting abstracts)

Ellena et al, 82(1) pi 57

20 [7] Perfluorocarbon blood substitutes,

CRC critical reviews in oncology/haematology, Vol 6, N°4, p 311-.374, 1987.

Biro.p, Blais P:

REIVINDICACIONES

- 5 1. El uso de perfluorocarbonos líquidos como solventes de carcinógenos en la fabricación de un medicamento para usar in vivo a fin de disminuir el riesgo de transformación cancerosa de una célula, donde la célula se expone al solvente durante al menos una hora.
2. El uso de la reivindicación 1, donde el perfluorocarbono líquido se selecciona entre: Bromuro de perfluorooctilo; Perfluorodecalina; FC-84; FC-72; RM-82; FC-75; RM-101.
- 10 3. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el medicamento de perfluorocarbono líquido se usa en células pulmonares.
4. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el medicamento de perfluorocarbono líquido se usa en células intestinales.
- 15 5. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes, donde el medicamento de perfluorocarbono líquido se usa en células cutáneas.
- 20 6. El uso de cualquiera de las reivindicaciones precedentes que comprende además el paso de analizar dicho perfluorocarbono líquido con respecto a la presencia de carcinógenos luego de la extracción de dicho perfluorocarbono líquido.

Perfluorocarbono líquido (% de extracción del carcinógeno)

Tiempo (min) PERFLUORODECALINA BROMURO DE PERFLUOROOCITO

5	10	14
10	16	21
20	25	31
40	37	46
80	52	64

