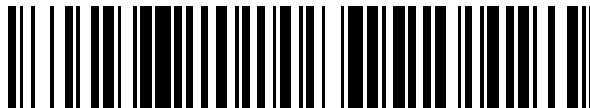


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 519 690**

51 Int. Cl.:

A61K 31/325 (2006.01)

A61K 31/46 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

C08K 5/49 (2006.01)

A61K 45/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.09.2005 E 05812994 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.08.2014 EP 1791904**

54 Título: **Método de tratamiento de envenenamiento por organosfósforo**

30 Prioridad:

24.09.2004 US 613121 P

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

07.11.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF MARYLAND, BALTIMORE
(50.0%)**

520 W. Lombard Street

Baltimore Maryland 21201-1627, US y

**THE GOVERNMENT OF THE UNITED STATES AS
REPRESENTED BY THE SECRETARY OF THE
ARMY (50.0%)**

72 Inventor/es:

ALBUQUERQUE, EDSON X.;

ADLER, MICHAEL y

PEREIRA, EDNA F. R.

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 519 690 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

Método de tratamiento de envenenamiento por organofósforo

La presente invención se refiere a un método de tratamiento de envenenamiento por organofósforo en un animal, en particular un mamífero, específicamente un ser humano.

5 Los compuestos de organofósforo (OP), debido a su estado físico y alta lipofilidad, penetran rápidamente y se acumulan en el sistema nervioso central (SNC). El envenenamiento por OP de personal militar en el campo de batalla y de ciudadanos de a pie en el caso de un ataque terrorista con gas nervioso, por ejemplo, ha provocado un aumento en la preocupación de las autoridades públicas y gubernamentales en todo el mundo en los últimos años. Además, el aumento de las demandas de cultivos alimenticios y ornamentales ha dado como resultado un aumento

10 en el uso de pesticidas basados en anticolinesterasa (anti-ChE) tóxicos, incluyendo OP tales como paratión y malatión, en países desarrollados y en vías de desarrollo. Esto ha dado como resultado un aumento en el envenenamiento accidental de agricultores y jardineros.

15 Se sabe desde hace mucho tiempo que los principales efectos tóxicos de los OP y otros agentes anti-ChE resultan de la inhibición de la enzima ChE, que es responsable de la inactivación del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en el SNC y el sistema nervioso periférico (SNP), aumentando y prolongando así de manera anómala las respuestas colinérgicas nicotínicas y muscarínicas. Desafortunadamente, los métodos actuales para tratar o prevenir los efectos tóxicos de los OP todavía están lejos de ser aceptables, particularmente en el caso de exposición aguda a agentes nerviosos que son altamente absorbibles y fácilmente accesibles al cerebro.

20 Se han sometido a prueba inhibidores reversibles de ChE, tales como piridostigmina-bromo (PB), fisostigmina y huperzina, como terapia de antidoto frente al envenenamiento por OP. Se ha usado PB como un tratamiento preventivo por soldados en el campo. Aunque es un potente agente anti-ChE, su acción está limitada principalmente al SNP, debido al hecho de que es una molécula cargada que apenas penetra en el SNC. Por tanto, PB no confiere eficazmente una protección de la ChE cerebral frente a gases nerviosos. La fisostigmina es más eficaz que PB, pero menos segura. Por tanto, no existe actualmente ningún método de protección del cerebro frente a la inhibición

25 irreversible de ChE por OP. Más bien, aquellos individuos que han estado expuestos a OP, se han tratado tras la exposición con agentes antimuscarínicos, tales como atropina, reactivadores de ChE, tales como oximas, por ejemplo, piridina-2-aldoxima (2-PAM), y anticonvulsivos, por ejemplo, diazepam.

30 En vista de lo anterior, es un objeto de la presente invención proporcionar un compuesto para su uso en el tratamiento del envenenamiento por OP. Este y otros objetos y ventajas, así como características inventivas adicionales, resultarán evidentes a partir de la descripción detallada proporcionada en el presente documento.

35 La presente invención se basa, al menos en parte, en el descubrimiento sorprendente e inesperado de que un alcaloide terciario, tal como galantamina, puede administrarse a un animal, en particular un mamífero, específicamente un ser humano, que corre el riesgo de desarrollar envenenamiento por OP para proteger al animal frente a envenenamiento por OP. Aunque la galantamina es un inhibidor de ChE más débil en comparación con PB y fisostigmina, es una molécula no cargada y, por tanto, tiene la capacidad de pasar a través de la barrera hematoencefálica. La galantamina también funciona como ligando de potenciación alostérica (APL, *allosteric potentiating ligand*) de receptores nicotínicos (nAChR), y puede "rescatar" algunos receptores nicotínicos de la desensibilización. Esta propiedad es importante en el contexto del envenenamiento por OP cuando ACh en exceso induce desensibilización masiva de los nAChR.

40 En vista de lo anterior, la presente invención proporciona galantamina y un agente antimuscarínico para su uso según la reivindicación 1. El método comprende administrar a un mamífero que corre el riesgo de desarrollar envenenamiento por OP una cantidad de galantamina de inhibición del envenenamiento por OP, tras lo cual el mamífero está protegido frente al envenenamiento por OP tras la exposición posterior a un OP. La galantamina puede administrarse al mamífero después de la exposición a un OP. Si se administra galantamina después de la

45 exposición, el método comprende además administrar una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico, tal como atropina, después de la exposición a un OP y antes de o de manera simultánea a una cantidad eficaz de inhibición del envenenamiento por OP de galantamina. Preferiblemente, el agente antimuscarínico y la galantamina se administran tan pronto como sea posible después de la exposición a un OP con el fin de maximizar la eficacia del tratamiento posterior. Dependiendo del momento de la administración posterior del agente antimuscarínico y la galantamina en relación con el momento de la exposición a un OP, esta realización también puede tener efectos

50 terapéuticos.

55 Un mamífero corre el riesgo de desarrollar envenenamiento por OP si está expuesto actualmente a o corre el riesgo de estar expuesto a un nivel de OP que es lo suficientemente alto como para envenenar al mamífero. Existe tal riesgo para el personal militar en el campo de batalla, ciudadanos de a pie en el caso de un ataque terrorista con gas nervioso, y agricultores y jardineros que trabajan con cultivos alimenticios y ornamentales tratados con pesticidas basados en anti-ChE.

Una cantidad de galantamina es una "cantidad de inhibición del envenenamiento por OP" o una "cantidad eficaz" cuando es suficiente para disminuir significativamente, de manera completa preferiblemente, los efectos

perjudiciales de la exposición a OP tal como se evidencia mediante signos de enfermedad, incluyendo pero sin limitarse a, cualquier signo hipercolinérgico periférico y central de intoxicación por OP, tal como hipersecreción, contracción muscular, dificultades respiratorias, convulsión o anomalías conductuales. Las cantidades de galantamina que son suficientes para inhibir el envenenamiento por OP pueden determinarse según técnicas de determinación del intervalo de dosificación tal como se conocen en la técnica. Por ejemplo, una dosis óptima puede determinarse por un experto clínico en un entorno clínico o en el campo. Generalmente, se determinan dosis óptimas alterando de manera incremental una dosis inicial hasta que se logra el efecto óptimo, según las circunstancias. Dosis de galantamina, tal como bromhidrato de galantamina, que oscilan entre aproximadamente 5 mg/kg y aproximadamente 8 mg/kg previenen de manera eficaz la toxicidad y letalidad inducidas por dosis letales de los agentes nerviosos somán y sarín cuando se administran también 10 mg/kg de atropina, tal como sulfato de atropina. La galantamina es una terapia de antídoto eficaz cuando se usa de manera aguda durante hasta aproximadamente 1 h antes o hasta aproximadamente 5 min después de la exposición a un OP.

La galantamina está disponible comercialmente de Hande Industry & Trade Holdings Co., Ltd., Shenzhen, China, entre otros. De manera deseable, la galantamina es adecuada para la administración a un animal, tal como un mamífero, en particular un ser humano, como composición farmacéutica. La formulación de composiciones farmacéuticas se conoce en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Mack Pub. Co.). La galantamina está disponible actualmente como una composición farmacéutica con el nombre Reminyl™ (Janssen-Cilag, Ltd., R.U.) para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La galantamina puede administrarse mediante cualquier vía de administración adecuada tal como se conoce en la técnica. Las vías de administración preferidas incluyen, pero no se limitan a, oral e intramuscular. La vía de administración dependerá, en parte, de las circunstancias del riesgo de exposición. Por ejemplo, puede preferirse la administración oral para el tratamiento previo de una exposición prevista, como en el caso de trabajadores agrícolas y otros individuos que manejan insecticidas de OP de manera regular, por ejemplo, diariamente, mientras que puede preferirse la administración intramuscular para el tratamiento posterior de personal militar en el campo de batalla y civiles expuestos a OP, tal como en el contexto de un ataque terrorista.

El agente antimuscarínico puede administrarse por cualquier vía adecuada. Se prefiere normalmente la administración intramuscular. Una cantidad de un agente antimuscarínico, tal como atropina, es una "cantidad eficaz" cuando es suficiente para inhibir, preferiblemente prevenir, cualquier efecto adverso de la exposición a OP. Una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico puede determinarse según técnicas de determinación del intervalo de dosificación tal como se conocen en la técnica. Por ejemplo, una dosis óptima puede determinarse por un experto clínico en un entorno clínico o en el campo. Generalmente, se determinan dosis óptimas alterando de manera incremental una dosis inicial hasta que se logra el efecto óptimo, según las circunstancias. Tal como se mencionó anteriormente, aproximadamente 10 mg/kg es la dosis más eficaz de atropina, tal como sulfato de atropina, cuando se administra galantamina, tal como bromhidrato de galantamina, en una dosis de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 8 mg/kg.

La atropina está disponible de Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). De manera deseable, la atropina u otro agente antimuscarínico es adecuado para la administración a un animal, tal como un mamífero, en particular un ser humano, como composición farmacéutica (véase, por ejemplo, Remington, citado anteriormente).

Ejemplos

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la presente invención pero no pretenden limitar su alcance en modo alguno.

Ejemplo 1 (Ejemplo de referencia)

Este ejemplo demuestra la eficacia del tratamiento previo con galantamina en un mamífero expuesto posteriormente a un OP.

Se administró (por vía intramuscular) galantamina (4-10 mg/kg) a cobayas (machos jóvenes que pesaban 300-420 g) 30 min antes de o 5 min después de la exposición de las cobayas a 1,5-2,0 x la dosis letal del 50% (DL50) de somán (inyección subcutánea de 42 ó 56 µg/kg) o sarín (inyección subcutánea de 63 ó 73,5 µg/kg). Se administró (por vía intramuscular) sulfato de atropina (6-16 mg/kg) a algunas de las cobayas 1-2 min después de la administración del agente nervioso somán o sarín. De manera simultánea a o de manera posterior a (por ejemplo, en el plazo de aproximadamente 4 min) la administración de atropina, algunas de las cobayas recibieron galantamina (por vía intramuscular). Las cobayas control recibieron galantamina (4-8 mg/kg), atropina (6-16 mg/kg), una combinación de las mismas o solución salina. Se realizó un seguimiento de la supervivencia y el peso corporal durante al menos una semana.

Se encontró que la galantamina protegía a las cobayas frente a dosis letales de somán o sarín. Un tratamiento que consistió en 5-8 mg/kg de galantamina y 10 mg/kg de atropina protegió totalmente a las cobayas frente a la toxicidad y letalidad inducidas por 1,5 x DL50 de somán y sarín. No sólo la galantamina protegió totalmente a las cobayas frente al fallecimiento sino que, poco después de la inyección de OP, las cobayas no mostraron ningún signo hipercolinérgico periférico y central de intoxicación por OP, tal como hipersecreción, contracción muscular,

dificultades respiratorias, convulsión o anomalías conductuales, y, durante el periodo de observación de hasta 1-2 semanas, no mostraron signos de enfermedad. Aquellas cobayas que recibieron somán o sarín seguido por sulfato de atropina presentaron todas síntomas potencialmente mortales en el plazo de 10-20 min y se sacrificaron según el protocolo aprobado por el IACUC para el cuidado y la manipulación de animales.

5 En las primeras 24 h, todas las cobayas que recibieron OP mostraron una pérdida de peso del 5-10%; sin embargo, en los días siguientes, las cobayas aumentaron de peso. Con dosis de galantamina que proporcionaban una protección parcial, algunas cobayas mostraron signos de intoxicación por OP. Estas cobayas tuvieron síntomas potencialmente mortales en el plazo de horas o días después de la exposición a OP y se sacrificaron según el protocolo aprobado por el IACUC para el cuidado y la manipulación de animales. Tales cobayas mostraron diferentes grados de toxicidad por OP y no recuperaron sus pesos corporales. Sin embargo, después de 3-4 días tras la exposición a OP, no se registraron muertes adicionales. Las cobayas control que recibieron o bien galantamina (hasta 8 mg/kg) o bien atropina (6-10 mg/kg) o la mezcla de los dos agentes protectores no mostraron pérdida de peso corporal ni otros efectos no deseados o signos de intoxicación.

10 Cuando se sacrificaron las cobayas mediante decapitación tras anestesia profunda con CO₂, se extrajeron muestras de sangre (obtenidas mediante punción cardíaca) y los cerebros completos y se congelaron inmediatamente en hielo seco para el posterior análisis de la inhibición de colinesterasa y los niveles de galantamina. Las mediciones iniciales indicaron que la inyección intramuscular de 8 mg/kg de galantamina daba como resultados concentraciones en plasma y cerebro del agente de aproximadamente 1-3 μM, que son similares a las concentraciones de galantamina observadas en el plasma de seres humanos tratados con dosis de galantamina recomendadas clínicamente para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Las concentraciones de galantamina en el cerebro son suficientes para prevenir la desensibilización de nAChR elevando los niveles de ACh que resultan de la inhibición irreversible de colinesterasas inducida por OP. La inhibición de colinesterasa en el cerebro estaba en el intervalo del 20% a <1% a partir de las concentraciones de galantamina mayor y menor medidas. Incluso cuando la inhibición de colinesterasa en el cerebro era insignificante, la galantamina todavía detuvo la toxicidad inducida por OP.

15 Se compararon los cerebros de aquellas cobayas que se protegieron satisfactoriamente frente al envenenamiento por OP mediante tratamiento previo o tratamiento posterior con galantamina, con los de las cobayas control de manera morfométrica usando la tinción Fluoro-Jade B. Las estructuras y la viabilidad neuronales eran muy similares en los cerebros de animales control y expuestos a OP, tratados con (galantamina + atropina).

Ejemplo 2

30 Este ejemplo demuestra la eficacia del tratamiento posterior con galantamina en un mamífero, que ha estado expuesto a un OP.

35 Se administró (por vía subcutánea) somán (42 μg/kg) a cobayas (machos jóvenes que pesaban 300-420 g). Después de 1 min, se administró (por vía intramuscular) atropina (10 mg/kg) a los animales. De manera simultánea a o de manera posterior a (por ejemplo, 4 min después) la administración de atropina, se administró (por vía intramuscular) galantamina (8-10 mg/kg) a los animales. La administración de 8-10 mg/kg de galantamina en el plazo de 5 min desde la administración de somán proporcionó una protección del 100%. En cambio, la administración de 6 mg/kg de galantamina en el plazo de 5 min desde la administración de somán sólo proporcionó una supervivencia de aproximadamente el 35%. En las primeras 24 h, todas las cobayas mostraron una pérdida de peso de aproximadamente el 5%; sin embargo, en los días siguientes, las cobayas aumentaron de peso al mismo ritmo que los animales control que no estuvieron expuestos a OP.

40 El uso de los términos “un/o” y “una” y “el/la” y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) ha de interpretarse como que cubre tanto el singular como el plural, a menos que se indique de otro modo en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. La cita de intervalos de valores en el presente documento simplemente pretende servir como un método abreviado de referencia individual a cada valor separado que se encuentra dentro del intervalo, a menos que se indique de otro modo en el presente documento, y cada valor separado se incorpora en la memoria descriptiva como si se citase individualmente en el presente documento. Todos los métodos descritos en el presente documento pueden realizarse en cualquier orden adecuado a menos que se indique de otro modo en el presente documento o se contradiga claramente por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o lenguaje a modo de ejemplo (por ejemplo, “tal como”) proporcionados en el presente documento, pretende simplemente explicar mejor la invención y no plantea una limitación sobre el alcance de la invención a menos que se reivindique de otro modo. Ningún lenguaje en la memoria descriptiva debe interpretarse como que indica cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Galantamina y agente antimuscarínico para su uso en la prevención o el tratamiento de envenenamiento por organofósforo (OP), que comprende administrar una cantidad de galantamina de inhibición del envenenamiento por OP a un mamífero después de la exposición a un OP y administrar además una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico después de la exposición a un OP y antes de o de manera simultánea a la galantamina.
- 10 2. Uso de galantamina y un agente antimuscarínico para la preparación de un medicamento para la prevención o el tratamiento de envenenamiento por organofósforo (OP), que comprende administrar una cantidad de galantamina de inhibición del envenenamiento por OP a un mamífero después de la exposición a un OP y administrar además una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico después de la exposición a un OP y antes de o de manera simultánea a la galantamina.
3. Galantamina y agente antimuscarínico para su uso o uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que el agente antimuscarínico es atropina.
- 15 4. Galantamina y agente antimuscarínico para su uso o uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la vía de administración para la galantamina y el agente antimuscarínico es intramuscular.