

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 620 077**

51 Int. Cl.:

A61K 35/62 (2006.01)

A61L 2/18 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **15.10.2010 PCT/EP2010/065563**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011 WO2011045427**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2010 E 10763732 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.12.2016 EP 2488216**

54 Título: **Extracto de sanguijuelas como agente antibacteriano**

30 Prioridad:

15.10.2009 EP 09290786

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
27.06.2017

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)
3 rue Michel-Ange
75794 Paris Cedex 16, FR y
UNIVERSITÉ DE LILLE 1 SCIENCES ET
TECHNOLOGIES (50.0%)**

72 Inventor/es:

**TASIEMSKI, AURÉLIE y
SALZET, MICHEL**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 620 077 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

Extracto de sanguijuelas como agente antibacteriano

La presente invención se refiere al uso de extracto de sanguijuelas

5 Actualmente, la infección por bacterias resistentes es un problema de sanidad pública cada vez más grave. Muchas líneas bacterianas se vuelven resistentes a la mayor parte de los tipos de tratamientos antibióticos actualmente disponibles. Se ha convertido en una dificultad real hallar nuevos agentes antibacterianos para combatir las bacterias resistentes, particularmente en el marco de la lucha contra infecciones nosocomiales. El mercado de nuevos agentes antibacterianos se estima en 5 billones de dólares en Estados Unidos.

10 En el dominio industrial, la eliminación de bacterias se logra, hasta ahora, por procedimientos largos, pesados y caros, tales como operaciones de limpieza y desinfección a gran escala. Sin embargo, dichos procedimientos a veces no son eficaces. Además, como cada vez hay más normas drásticas tales como las normas "REACH" o "BIOCIDES", la cantidad de productos utilizables disminuye considerablemente. Por ejemplo, la FDA recientemente ha limitado el uso de ciertos componentes, tales como Triclosán, que genera importante resistencia bacteriana. Además, la mayoría de los agentes antibacterianos usados hasta ahora son no naturales y son capaces de provocar problemas ambientales, ligados a la dificultad de eliminación de estos agentes.

15 La infección de los alimentos es otro problema de salud pública ligado a la contaminación de los alimentos por bacterias patógenas tales como *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis* o *Campylobacter jejuni*. La incidencia de infección en los alimentos, que es frecuente en los países en desarrollo, también está aumentando en los países desarrollados.

20 Recientemente, los investigadores han recurrido a una nueva fuente biológica basada en nuevos mecanismos, y posteriormente se han encontrado varios agentes antibacterianos nuevos que no provocarían resistencia bacteriana.

25 Los péptidos antimicrobianos (AMP) son un tipo de antibiótico natural, no inmunogénico y producido por plantas o por animales que tienen un modo especial de acción y actividad. Generalmente reaccionan a nivel de membranas bacterianas y no favorecen la aparición de líneas bacterianas resistentes. Entre los AMP presentes en el mercado, la *plectasina recombinante*, por ejemplo, se usa para combatir las bacterias Gram+, particularmente contra *Streptococcus pneumoniae*, un tipo de bacterias conocido por su resistencia a terapia clásica con antibióticos. Otros AMP, tales como *Pexiganan*, actualmente están en fase clínica 3. Dicho compuesto, derivado de magainina de anfibios, dirige el tratamiento de impétigo y úlcera de estómago. Pueden citarse otros compuestos como *isaganan*, derivado de la protegrina porcina para el tratamiento de la esofagitis o úlcera de estómago, o *Neuprex* procedente de la proteína humana rBP123, o también *Ominagan*, procedente de indolicina, para el tratamiento de infección ligada al uso de catéteres.

35 La historia del uso de las sanguijuelas de la especie *Hirudo medicinalis* en medicina se remonta a la 18.^a dinastía de Egipto. En el siglo XIX en Francia, las sanguijuelas se han usado en el tratamiento de la faringitis, problemas oftálmicos, obesidad y trastornos mentales. Durante el tratamiento, las sanguijuelas se colocan directamente sobre el abdomen del paciente. Posteriormente, el tratamiento con sanguijuelas cayó en desuso hasta los años cincuenta del último siglo. Por ejemplo, en 1948, se usaron sanguijuelas por P. Durand, P. Viard y R. Vendel en el tratamiento del asma.

40 Actualmente, con el desarrollo de la microcirugía, las sanguijuelas se usan generalmente en hospitales durante una cirugía plástica o traumatológica para resolver muchos problemas debidos a la insuficiencia de drenaje venoso. La supervivencia de un tejido reimplantado depende de la eficacia del retorno venoso. Sin embargo, es muy difícil establecer un retorno venoso ya que es más difícil suturar una vena que una arteria. Ciertos cirujanos entonces consideran la aplicación local de sanguijuelas para resolver este problema. Mediante su succión, las sanguijuelas estimulan el drenaje del tejido en peligro de necrosis. También favorecen la restauración de los capilares cercanos entre las caras de una herida donde es técnicamente imposible una sutura quirúrgica.

45 En 2003, los investigadores alemanes encontraron que la terapia con sanguijuelas puede ayudar a aliviar los síntomas en pacientes con osteoartritis de la rodilla colocando directamente sanguijuelas en las rodillas de los pacientes (Michalsen y col., Ann intern Med. 2003; 139: 724-730).

50 Sin embargo, la terapia con sanguijuelas usada hasta ahora, usando organismos vivos, presenta un riesgo potencial de infección, especialmente cuando hay una puerta de entrada, tal como la mordedura de una sanguijuela. En 1983, Whitlock y col. (Br J Plast Surg 1983; 36: 240-3) sugirieron, por primera vez, la posibilidad de infección subcutánea causada por *Aeromonas hydrophila*, un tipo de bacterias aeróbicas Gram negativas, mediante terapia con sanguijuelas. Este tipo de bacterias existe en la flora intestinal de las sanguijuelas y digiere los glóbulos rojos tomados por las sanguijuelas. Esta bacteria también está ligada a dos tipos de gastroenteritis. El primer tipo es una enfermedad similar al cólera, que causa diarrea en agua de arroz. El otro tipo de enfermedad es gastroenteritis disintérica, que causa deposiciones sueltas llenas de sangre y moco.

Aeromonas hydrophila no es el único patógeno presente en las sanguijuelas que pueden provocar infección. Una pequeña cantidad de bacilos Gram negativos incluyendo *Pseudomonas* y una ínfima proporción de gérmenes anaeróbicos también pueden encontrarse en la superficie de las sanguijuelas.

5 La desinfección de las sanguijuelas antes de la terapia con sanguijuelas se logra generalmente sumergiendo las sanguijuelas en solución antibiótica y después aclarando con agua estéril. Sin embargo, este procedimiento no siempre puede desinfectar de forma eficaz las sanguijuelas. A veces, causa también alergia en el paciente y afecta a la capacidad de succión de las sanguijuelas.

La solicitud de patente FR2834292 informa del uso de extracto de sanguijuelas como agentes anticoagulantes, antiinflamatorios o trombolíticos.

10 La solicitud de patente FR2834293 presenta el uso de extracto preparado a partir de sanguijuelas hambrientas como agentes antinarcóticos, antiestrés o antiinflamatorio.

La solicitud de patente FR2843883 se refiere a extracto de sanguijuela no irritante, que tiene actividad antiinflamatoria y/o antisorbiásica, obtenido suspendiendo extracto crudo homogeneizado en solución salina, incubando y recuperando el sobrenadante.

15 En resumen, estas solicitudes previas de patente proporcionan solamente información acerca de la actividad antiinflamatoria y anticoagulante del extracto de sanguijuelas, particularmente extracto de saliva.

Sin embargo, aún existe una necesidad importante de encontrar un nuevo agente antibacteriano natural y seguro que, por un lado, no provoque resistencia bacteriana y, por otro lado, no tenga el inconveniente relacionado con el funcionamiento de organismos vivos.

20 Recientemente, en el marco de estudios relativos al desarrollo de herramientas de diagnóstico para osteoartritis, los inventores de la presente invención han descubierto sorprendentemente que la osteoartritis tiene un origen bacteriano, y descubrieron que el extracto de sanguijuelas expone la alta propiedad antibacteriana. En los trabajos previos, los inventores han descubierto 4 nuevas propiedades antimicrobianas en el sistema nervioso central de las sanguijuelas. Ahora, los inventores encuentran que los agentes antibacterianos también están presentes en saliva de sanguijuelas.

25 El primer aspecto de la presente invención se refiere a extracto de sanguijuelas para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.

30 De acuerdo con la presente invención, el extracto de sanguijuelas puede obtenerse de tejidos homogeneizados de la sanguijuela completa, así como de cualquier parte de la sanguijuela, en particular de las glándulas salivales, mostrando dichos tejidos homogeneizados actividad antibacteriana.

Las sanguijuelas usadas en la presente invención pueden ser cualquier sanguijuela hematófaga, en particular las *Hirudinidae*, por ejemplo, *Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbana*, *Hirudinaria manillensis*, *Haemopsis marmorata*, *Macrobdelella decora*.

35 En una realización ventajosa, el extracto de sanguijuelas es para su uso en el tratamiento de enfermedades del grupo que comprende artritis de origen bacteriano, enfermedades transmitidas por alimentos causadas por una bacteria patógena o infecciones nosocomiales.

De acuerdo con la invención, la artritis de origen bacteriano comprende artritis séptica.

40 De acuerdo con la presente invención, enfermedades transmitidas por alimentos significa infección de alimentos causada por la presencia de bacterias, por ejemplo, *Campylobacter jejuni*, *Salmonellae*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, u otros microbios que infectan el organismo después del consumo de alimentos.

45 De acuerdo con la presente invención, infecciones nosocomiales significa infecciones que son el resultado del tratamiento en un hospital o una unidad de servicio sanitario, pero secundarias a la afección original del paciente. Las infecciones se consideran nosocomiales si aparecen por primera vez 48 horas o más después de la admisión hospitalaria o en 30 días después del alta. Este tipo de infección también se conoce como infección adquirida en el hospital (o más genéricamente infección asociada con cuidados sanitarios).

50 Las infecciones nosocomiales a menudo están causadas por bacterias Gram positivas, tales como *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina, *Clostridium difficile*, *Enterococcus* resistente a vancomicina, o bacterias Gram negativas, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Legionella*, o micobacterias. Como infecciones nosocomiales, se pueden indicar, como ejemplos sin limitación, neumonía asociada a ventilación, tuberculosis adquirida en hospital, infección del tracto urinario adquirida en hospital, neumonía adquirida en hospital o gastroenteritis adquirida en hospital.

En otra realización ventajosa, el extracto de sanguijuelas de la presente invención es para su uso en el tratamiento de enfermedades causadas por bacterias que pertenecen a agentes biológicos de clase II o de clase III.

Los agentes biológicos se clasifican en 4 clases de acuerdo con la importancia del riesgo de propagación que representan.

- 5 La clase I es el agente biológico que no es susceptible a provocar una enfermedad en seres humanos.
La clase II es el agente biológico que puede provocar una enfermedad en seres humanos y constituir un peligro público, pero cuya propagación en la comunidad es improbable. Generalmente existe profilaxis o tratamiento eficaz para esta enfermedad.
- 10 La clase III es el agente biológico que puede provocar una enfermedad en seres humanos y constituir un peligro público grave, y que tiene riesgo de propagación en la comunidad. Sin embargo, generalmente existe profilaxis o tratamiento eficaz para esta enfermedad.
La clase IV es el agente biológico que provoca enfermedades en seres humanos y constituye un peligro público grave, y que tiene alto riesgo de propagación en la comunidad. Generalmente no existe profilaxis ni tratamiento eficaz para estas enfermedades.

- 15 En una realización más ventajosa, las bacterias de clase II o de clase III se seleccionan del grupo que consiste en *Acinetobacter thymum*, *Salmonella thymum*, *Alcaligenes faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shewanella*, *Escherichia coli*, *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus saprophyticus*.

Otro aspecto de la invención es el uso de extracto de sanguijuelas como producto de limpieza.

- 20 En una realización ventajosa, dicho producto de limpieza se selecciona del grupo que consiste en un producto desinfectante de hospital o un desinfectante general del hogar, tal como un limpiacristales, un limpiabaños, un limpiacocinas, un limpiasuelos, un detergente para la ropa, un producto de limpieza, un producto de lavado de frutas y verduras y un suavizante de telas.

Otro aspecto de la presente invención es el uso de extracto de sanguijuelas como agente antibacteriano en una composición cosmética para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.

- 25 En una realización ventajosa, el extracto de sanguijuelas usado en la presente invención es un extracto de saliva de sanguijuelas. De acuerdo con la invención, un extracto de saliva significa saliva cruda o saliva purificada.

La saliva de las sanguijuelas puede extraerse de acuerdo con cualquier procedimiento convencional, por ejemplo, el procedimiento de Bligh. E.J. y Dyer. H.J. (Biochem, physiol. 37, 911-917 (1959)).

- 30 En una realización más ventajosa, el extracto de sanguijuelas usado en la presente invención es un extracto de sanguijuelas purificado.

El extracto de saliva de sanguijuelas purificado puede obtenerse de acuerdo con cualquier procedimiento convencional, por ejemplo, por el siguiente procedimiento:

- 35 - extraer saliva de sanguijuelas en gran cantidad de acuerdo con un procedimiento convencional,
- esterilizar la saliva de sanguijuelas por cualquier procedimiento convencional, tal como por UV y, opcionalmente
- purificar la saliva de sanguijuelas por cualquier procedimiento convencional, tal como por cromatografía.

Otro aspecto de la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende extracto de saliva de sanguijuelas para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.

- 40 En una realización ventajosa, la composición farmacéutica se usa para el tratamiento de enfermedades seleccionadas del grupo que comprende artritis séptica o enfermedades transmitidas por alimentos causadas por una bacteria patógena o infecciones nosocomiales.

En una realización más ventajosa, las infecciones nosocomiales están causadas por un tipo de bacterias seleccionadas del grupo que consiste en bacterias (gram +, gram -) o micobacterias.

En otra realización más ventajosa, la composición farmacéutica actúa contra las bacterias de Clase II y/o de Clase III.

- 45 En una realización particularmente más ventajosa, las bacterias se seleccionan del grupo que consiste en *Acinetobacter thymum*, *Salmonella thymum*, *Alcaligenes faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shewanella*, *Escherichia coli*, *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Helicobacter pylori*.

De acuerdo con la invención, la composición farmacéutica puede comprender, además del extracto de sanguijuelas, cualquier otra sustancia activa, por ejemplo, un agente antiinflamatorio u otros agentes antibacterianos.

- 50 El agente antiinflamatorio comprendido en dicha composición farmacéutica puede ser un agente antiinflamatorio conocido por un experto en la materia, tal como esteroides de origen sintético o natural, agente antiinflamatorio no

esteroideo y péptidos antiinflamatorios de origen vegetal o animal, tal como de sanguijuelas.

Los agentes antibacterianos también pueden ser cualquier agente conocido en la técnica.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica también puede contener un vehículo farmacéuticamente aceptable, o diluyentes, emulsionantes, adyuvantes y vehículos según se desee.

- 5 De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede administrarse por vía tópica, vía enteral o vía parenteral por inyección o por infusión.

De acuerdo con la presente invención, la composición farmacéutica puede fabricarse en una forma líquida, tal como una inyección, una pulverización o en forma sólida, tal como una crema, parches, comprimidos, cápsulas.

- 10 Otro objetivo de la divulgación es un procedimiento para tratar o prevenir enfermedades seleccionadas de enfermedades transmitidas por alimentos causadas por una bacteria patogénica o infecciones nosocomiales, comprendiendo dicho procedimiento la administración de un extracto de sanguijuelas a un paciente que lo necesite.

La invención se ilustra por el siguiente ejemplo.

Ejemplo

Ensayo de actividad antimicrobiana de extracto crudo de saliva de sanguijuelas

- 15 Se añaden 50 µl de extracto crudo de saliva de sanguijuelas a 500 µl de cultivo de diferentes bacterias exponencial. Las bacterias ensayadas se enumeran en la siguiente tabla. La actividad bactericida del extracto crudo de saliva de sanguijuelas en diferente solución bacteriana se ensaya durante 24 horas. Cuando se detecta actividad, todas las bacterias se eliminan en menos de 24 horas.

Bacterias Gram-negativas	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	++
<i>Salmonella thyphimurium</i>	+
<i>Alcaligenes faecalis</i>	+
<i>Haemophilus influenzae</i>	+
<i>Shewanella</i>	++
<i>Escherichia coli</i>	+
Bacterias Gram-positivas	
<i>Aerococcus viridans</i>	++
<i>Micrococcus luteus</i>	++
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	+
<i>Staphylococcus aureus</i>	+
<i>(++) alta actividad detectada; (+) baja actividad detectada</i>	

REIVINDICACIONES

1. Extracto de sanguijuelas para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.
2. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la enfermedad bacteriana se selecciona del grupo que comprende artritis séptica, enfermedades transmitidas por alimentos causadas por una bacteria patógena e infecciones nosocomiales.
3. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que la infección nosocomial está causada por bacterias seleccionadas del grupo que consiste en bacterias (gram +, gram -) o micobacterias.
4. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que las bacterias son las bacterias de Clase II y/o de Clase III.
5. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que dicha bacteria se selecciona del grupo que consiste en *Acinetobacter thyphimirium*, *Salmonella thyphimirium*, *Alcaligenes faecalis*, *Haemophilus influenzae*, *Shewanella*, *Escherichia coli*, *Aerococcus viridans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Helicobacter pylori*.
6. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que dicho extracto de sanguijuelas es un extracto de saliva de sanguijuelas.
7. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que dicho extracto de sanguijuelas es un extracto de sanguijuelas purificado.
8. Extracto de sanguijuelas para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho extracto de sanguijuelas se extrae de la especie de sanguijuelas elegida de *Hirudinidea*, particularmente de *Hirudo medicinalis*, *Hirudo verbena*, *Hirudinaria mallinensis*, *Haemopsis marmorata*, *Macrobdella decora*.
9. Uso de extracto de sanguijuelas como producto de limpieza, seleccionado del grupo que comprende un desinfectante de hospital, un desinfectante general del hogar, un limpiacristales, un limpiabaños, un limpiacocinas, un limpiasuelos, un detergente para la ropa, un producto de limpieza, un producto de lavado de frutas y verduras.
10. Extracto de sanguijuelas para su uso como agente antibacteriano en una composición cosmética para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.
11. Uso o extracto para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 9 a 10, en el que dicho extracto de sanguijuelas es un extracto de saliva de sanguijuelas.
12. Composición farmacéutica que comprende extracto de saliva de sanguijuelas, para su uso en el tratamiento de enfermedades bacterianas.
13. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en el que la enfermedad bacteriana se selecciona del grupo que comprende artritis séptica, enfermedades transmitidas por alimentos causadas por una bacteria patógena o infecciones nosocomiales.
14. Composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 13, en la que dicha composición farmacéutica se administra por vía tópica, por vía enteral o por vía parenteral por inyección o infusión.