

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 633 744**

51 Int. Cl.:

A61K 33/00 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

A61K 9/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.07.2013 PCT/FR2013/051621**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.04.2014 WO14057178**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2013 E 13744712 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 2906228**

54 Título: **Uso de argón para prevenir o tratar las consecuencias neurológicas de un choque séptico**

30 Prioridad:

09.10.2012 FR 1259587

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
25.09.2017

73 Titular/es:

**L'AIR LIQUIDE SOCIÉTÉ ANONYME POUR
L'ETUDE ET L'EXPLOITATION DES PROCÉDÉS
GEORGES CLAUDE (100.0%)
75 quai d'Orsay
75007 Paris, FR**

72 Inventor/es:

LEMAIRE, MARC

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 633 744 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

Uso de argón para prevenir o tratar las consecuencias neurológicas de un choque séptico

La invención se refiere al uso de argón gaseoso para fabricar todo o en parte un medicamento inhalable dirigido a tratar y/o prevenir las consecuencias neurológicas en relación con el choque séptico.

5 Un choque séptico o infeccioso es el resultado de la presencia en la sangre de toxinas bacterianas que llevan a una insuficiencia de la función cardiaca, una oliguria o la disminución de la cantidad de orina eliminada, y una acidosis metabólica o disminución del pH del organismo, ocurriendo el conjunto en su sujeto, es decir un ser humano, cuya temperatura es superior a aproximadamente 38,9°C.

10 Un choque séptico se debe principalmente a las bacterias Gram (-), en particular las enterobacterias, tales como *Escherichia Coli*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacteroides Fragilis*..., y en este caso la toxina es una endotoxina, o a bacterias Gram (+), tales como neumococos, estreptococos, estafilococos..., y en esta caso la toxina es una exotoxina. El choque séptico también puede ser causado por una levadura, por ejemplo el tipo de *Candida*, un virus o un parásito, por ejemplo, *Plasmodium Falciparum*.

15 El choque séptico es un problema importante de salud pública, ya que se cuentan alrededor de 75.000 casos por año en Francia, y es una de las principales causas de mortalidad, en especial en cuidados intensivos.

20 Así pues, se tasa en 26% el número de muertes en cuidados intensivos que tienen relación con un choque séptico, independientemente de su etiología primaria, según Annane et al., *Lancet*, 2005. Además, cerca de 60% de los pacientes que han sufrido un choque séptico pero han sobrevivido, presentan deficiencias neurológicas graves que pueden confundirse con signos de una encefalopatía o de un delirio grave, como recuerdan Eidelman et al., *JAMA* 1996. Por otro lado, de 30 a 50% de los pacientes que sobreviven presentan secuelas neurológicas a largo plazo en forma de problemas neurocognitivos, según Hiwashina, Ely et al., *JAMA* 2010.

La epidemiología del choque séptico pone de manifiesto un aumento de casos, un aumento de la mortalidad y secuelas asociadas con tipos de problemas psicocognitivos asociados con la encefalopatía séptica, siendo necesario prevenir y tratar estas lesiones.

25 Esto explica el aumento de los trabajos clínicos sobre el tema, pero hoy en día no existe ningún tratamiento específico de la encefalopatía y las últimas moléculas ensayadas han resultado ineficaces, incluso han producido efectos secundarios nefastos para los pacientes, como recuerdan M.J. van Eijk et al., *Lancet* 2010.

La no existencia de una terapia eficaz se explica principalmente por un desconocimiento de los mecanismos fisiopatológicos que entran en juego durante los choques sépticos.

30 Recientemente, se ha sugerido que las alteraciones de la membrana encefalohematológica que resultan de la activación de subpoblaciones de células del cerebro, en particular microgliales y endoteliales, podrían explicar estas anomalías debido al aumento de la liberación de mediadores de la inflamación y de sustancias neurotóxicas en el cerebro, como explica van Gool WA et al., *Lancet* 2010; y Iacobone et al., *Crit Care Med* 2009.

35 Se ha mostrado que algunas deficiencias o fallos que afectan al cerebro podrían tratarse con ayuda de gas inhalado. Así, el documento EP-A-1158992 propone usar xenón inhalado para luchar contra las neurointoxicaciones cerebrales, en particular isquémicas, que se caracterizan por una disfunción cerebral de uno o de varios sistemas de neurotransmisión.

40 Además, el documento EP-A-1541156 propone por su parte el uso de argón inhalado para luchar contra dichas neurointoxicaciones cerebrales. Se ha evaluado también el potencial neuroprotector del argón gaseoso, administrado solo o mezclado con protóxido de nitrógeno, en el desarrollo y la expresión de la sensibilización a la D-anfetamina.

Sin embargo, los mecanismos de acción del argón todavía se conocen mal y podrían basarse en una acción agonista de receptores GABA_A, en particular del sitio de las benzodiazepinas, como describen J. Abraini et al., *Anesth Analg*, 2003, 96:746-749.

45 Recientemente, la capacidad de neuroprotección del argón ha sido confirmada por Loetscher et al., *Critical Care*, 2009, 13 :R206;doi:10.1186/cc8214.

50 Se ha mostrado que el argón puede proteger las células cocleares en cultivo aislado, es decir, las llamadas células pilosas procedentes del órgano de Corti de rata, como describen Yarin et al., *Hear Res* 2005, 201:1-9. Estas células son similares a las neuronas cerebrales, para las que se ha mostrado que otros gases, en particular el xenón, pueden presentar un efecto neuroprotector, como recuerdan Ma et al., *Br J Anaesth*, 2002, vol 98: 739-46.

Además, el documento EP-A-1651243 propone por su parte, usar mezclas de Xe/N₂O inhaladas para este fin, mientras que el documento DE-A-19991033704 propone formulaciones líquidas que contienen xenón disuelto para tratar hipoxias e isquemias cerebrales.

- 5 Como se ha visto, la mayoría de los tratamientos gaseosos propuestos se dirigen a tratar las deficiencias o fallos esencialmente cerebrales, es decir que afectan al cerebro, pero estos documentos no proponen preservar al cerebro en caso de fenómenos inflamatorios responsables de lesiones neurológicas a corto y largo plazo, en particular, cuando son el resultado o consecuencia de un choque séptico, en particular un choque séptico causado por la presencia en la sangre de varias endotoxinas o exotoxinas.
- Por lo tanto, el problema es proponer un tratamiento preventivo y/o curativo que permita tratar y/o prevenir las consecuencias neurológicas secundarias de un choque séptico o infeccioso, es decir, los daños o lesiones neurológicas susceptibles de ser generadas o de ser resultado de un choque séptico.
- 10 La solución de la invención es, por lo tanto, una composición gaseosa que contiene argón gaseoso para su uso por inhalación para prevenir o para tratar la o las consecuencias neurológicas secundarias de un choque séptico en un paciente.
- En efecto, en el marco de la presente invención, se ha puesto de manifiesto que un gas basado en argón, puede preservar al cerebro de fenómenos inflamatorios responsables de lesiones neurológicas, a corto y largo plazo, en caso de choque séptico.
- 15 Según el caso, la composición gaseosa o medicamento gaseoso inhalable de la invención puede comprender una o varias de las siguientes características:
- la composición gaseosa contiene una cantidad eficaz de argón gaseoso, es decir, al menos 10% en volumen de argón,
 - la composición gaseosa contiene entre 15 y 80% en volumen de argón,
 - 20 - la composición gaseosa contiene al menos 20% en volumen de argón,
 - la composición gaseosa contiene al menos 30% en volumen de argón,
 - la composición gaseosa contiene menos de 75% en volumen de argón,
 - el choque séptico es resultado de la presencia en la sangre de una o varias toxinas, en particular de una o varias toxinas de origen bacteriano, vírico, parasitario o procedentes de una levadura.
 - 25 - el choque séptico es resultado de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano, en particular de bacterias Gram negativas (G-), en particular de bacterias de tipo enterobacterias (Escherichia Coli, Pseudomonas Proteus, Serratia, Bacteroides Fragilis...). En este caso, la toxina es una endotoxina.
 - el choque séptico es resultado de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano, en particular de bacterias Gram positivas (G+), en particular de bacterias de tipo neumococos, estreptococos, estafilococos...En este caso, la toxina es una exotoxina.
 - 30 - el choque séptico es resultado de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de levadura, tales como una Candida, o de origen vírico, en especial un parásito de tipo Plasmodium Falciparum.
 - el choque séptico se refiere a uno o varios órganos distintos del cerebro, en particular, el hígado, riñones, pulmones y/o el corazón.
 - 35 - la composición gaseosa contiene además oxígeno, preferiblemente al menos 21% en volumen de oxígeno.
 - la composición gaseosa contiene además un compuesto adicional seleccionado del grupo formado por He, Ne, NO, CO y N₂.
 - la composición gaseosa está exenta de xenón, es decir que no contiene xenón o solamente en estado de trazas o impurezas inevitables.
 - 40 - el argón se administra al paciente, una o varias veces al día durante una duración de la inhalación desde algunos minutos a una o varias horas.
 - la composición gaseosa está formada por una mezcla gaseosa que contiene, además, oxígeno, nitrógeno o sus mezclas, en particular del aire.
 - 45 - la composición gaseosa está formada por una mezcla gaseosa binaria constituida por argón y oxígeno para el resto.
 - la composición gaseosa está formada por una mezcla gaseosa ternaria constituida por argón, nitrógeno y oxígeno.
 - la composición gaseosa es un medicamento gaseoso listo para usar.

- la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas que tiene un contenido (equivalente en agua) de hasta 50 litros, típicamente del orden de 15 litros.

- la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas en cuyo seno la composición gaseosa está a una presión inferior o igual a 350 bar.

5 - la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas equipada con una válvula o válvula reguladora integrada que permite controlar el caudal y opcionalmente la presión de gas suministrado.

- la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas de acero, aluminio o de materiales compuestos.

10 Dicho de otra forma, la invención se refiere también al uso de argón gaseoso para fabricar una composición de medicamento inhalable según la invención, dirigida a prevenir o a tratar las consecuencias neurológicas secundarias de un choque séptico.

De una forma general, durante el tratamiento, la administración de la composición gaseosa al paciente se hace por inhalación, por ejemplo, mediante un respirador, un nebulizador o de forma espontánea con botellas de gas preacondicionadas conectadas a una máscara facial o nasal o a cánulas nasales.

15 La duración de la administración está en función de la duración del choque séptico, seleccionado para cada caso que afecta al paciente considerado, por ejemplo, el argón se puede administrar durante un periodo de administración desde algunos minutos a algunas decenas de minutos, incluso horas, por ejemplo, menos de una hora, con una frecuencia que puede ser de una a varias veces al día y en una duración total del tratamiento de uno o varios días, semanas.

20 El argón o la mezcla gaseosa basada en argón que forma la composición gaseosa según la presente invención, preferiblemente está acondicionada en una botella de gas a presión o en forma líquida, por ejemplo, en una botella de varios litros (contenido en agua) y a una presión comprendida entre 2 y 300 bar.

El argón o la mezcla gaseosa basada en argón se puede presentar en forma "lista para usar", por ejemplo, en premezcla con oxígeno, o bien ser mezclada en el sitio cuando se va a usar, en especial con oxígeno y opcionalmente otro compuestos gaseoso, por ejemplo, nitrógeno.

25 En el marco de la invención, el paciente es un ser humano, es decir un hombre o una mujer, incluidos niños, adolescentes o cualquier otro grupo de individuos, por ejemplo, recién nacidos o personas mayores.

Ejemplo

30 Con el fin de mostrar la eficacia del argón en el tratamiento o la prevención de las consecuencias de un choque séptico, se han evaluado los sucesos tempranos que conducen a una encefalopatía en el marco de un choque séptico y los efectos del argón gaseoso en los mecanismos, en 3 etapas:

- Activación temprana de células microgliales in situ en respuesta a un estímulo periférico y responsable de una liberación de mediadores de la inflamación en el tejido cerebral, incluso cuando la barrera hematoencefálica es estanca en ratones CX3CR1^{GFP/+}.

35 - Efectos del argón en un modelo in vitro de cultivos primarios de células microgliales de cerebros sanos y de cerebros sépticos.

- Prueba de concepto para una inflamación central y periférica en un modelo animal de choque séptico.

40 Después de las fases iniciales de la septicemia, es decir, los 4 primeros días, se ha evaluado en un modelo animal relevante y validado, la reacción del tejido nervioso, estudiando en especial la activación microglial, tal como modificaciones morfológicas, modificaciones del estado mitocondrial y de su biosíntesis in situ de mediadores de la inflamación (estudios proteómicos y genómicos).

Se ha estudiado in vitro, el efecto del argón en la modulación de la actividad microglial.

Células extraídas de cerebros de ratones CX3CR1^{GFP/+} se han expuesto a argón gaseoso y se han evaluado la liberación de mediadores de la inflamación y su estado mitocondrial.

45 A continuación se ha estudiado el efecto del argón en un estudio in vivo en animales sépticos y sus controles. En particular, se han evaluado el comportamiento clínico, la mortalidad y las modificaciones neuropatológicas, tales como la pérdida neuronal, activación microglial y astrocitaria, neuroinflamación.

50 El choque séptico se ha creado por ligadura del intestino ciego seguido de una abertura de este último en la cavidad peritoneal en ratones C57BL/6 y en una variedad genéticamente modificada (ratones con inactivación génica CX3CR1^{GFP/+}). Esta variedad de ratones tiene una fluorescencia de la GFP en las células microgliales. Su expresión varía y se correlaciona con la intensidad de la activación de las células microgliales.

Los efectos del argón se han evaluado en las modulaciones de las modificaciones neuropatológicas y en la neuroinflamación.

Durante el choque séptico, se ha estudiado:

- la tasa de supervivencia, la recuperación post-terapéutica y en particular el impacto en el comportamiento;
- 5 - la activación de células microgliales, el nivel de apoptosis (CD45, MHC antígeno de clase 1, caspasa activada 3, fragmentación del ADN), producción de mediadores de la inflamación, NO y ROS;
- el impacto neuropatológico (neurotoxicidad, muerte neuronal, proliferación astrocitaria)

Los resultados obtenidos se dan a continuación.

Estudio in vitro (células microgliales): modulación de la actividad celular

- 10 La siguiente tabla I ilustra la liberación de mediadores de la inflamación y su estado mitocondrial seguido de una puesta en contacto con aire, nitrógeno, y a modo comparativo, argón según la presente invención.

Una respuesta favorable se designa con un signo (-) que corresponde a una prueba de ralentización de la actividad, mientras que una respuesta desfavorable mediante un signo (+) que corresponde a una señal de aumento de la actividad.

- 15 Tabla I

	Cerebro sano	Cerebro con septicemia
Grupo de control AIRE (ref.)	Nivel de referencia de la actividad 0	Nivel de referencia de la actividad +
Grupo de NITRÓGENO	0	++
Grupo de ARGÓN	±	-

Estudio in vivo

- 20 La siguiente tabla II ilustra el comportamiento clínico, la mortalidad y las modificaciones neuropatológicas en animales, que resultan de la puesta en contacto con aire, nitrógeno, y a modo comparativo, argón según la presente invención.

Una respuesta favorable se designa con un signo (-), mientras que una respuesta desfavorable se designa por un signo (+).

Tabla II

	Clínica	Mortalidad	Modif. neuropática+
Grupo de control AIRE	+	++	+++
Grupo de NITRÓGENO	+	+	++
Grupo de ARGÓN	-	--	--

- 25 Se constata, viendo las tablas I y II, que el argón permite luchar eficazmente contra los choques sépticos en los animales ensayados.

Bibliografia

- Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM: Septicshock. *Lancet* 2005, 365:63-78
- Eidelman LA, Putterman D, Putterman C, Sprung CL: The spectrum of septicencephalopathy. Definitions, etiologies, and mortalities. *JAMA* 1996, 275:470-473.
- Hiwashina, Ely et. al.: Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA* 2010; 304(16):1787-1794
- Iacobone E, Bailly-Salin J, Polito A, Friedman D, Stevens RD, Sharshar T: Sepsisassociatedencephalopathy and its differential diagnosis. *Crit Care Med* 2009, 37:S331-336.
- Iborra et al, The functional organization of mitochondrial genomes in human cells. *BMC Biology* 2004, 2:9
- Jung S, Aliberti J, Graemmel P, Sunshine MJ, Kreutzberg GW, Sher A, Littman DR: Analysis of fractalkine receptor CX(3)CR1 function by targeted deletion and greenfluorescent protein reporter gene insertion. *Mol Cell Biol* 2000, 20:4106-4114.
- Kadoi et. al.: An alteration in the gamma-aminobutyric acid receptor system in experimentally induced septic shock in rats. *Crit Care Med* 1996, 298-305
- Kakkar P, Singh BK. : Mitochondria : a hub of redox activities and cellular distress control. *Mol Cell Biochem.* 2007Nov ; 305(1-2):235-53
- MJ van Eijk et. al., Effect of rivastigmine as an adjunct to usual care with haloperidol on duration of delirium and mortality in critically ill patients: a multicentre, double-blind placebo-controlled randomised trial. *Lancet* 2010 ;376: 1829-1837.
- San Jose MC, L.D., roxas AA, The clinical and biochemical features of adult patients with sepsis syndrome and encephalopathy. *Phil J Microbiol Infect Dis* 1999. 28(2): p. 46-52.
- Sharshar et. al.: Brain lesions in septic shock, a MRI study. *Intensive Care Medicine* 2007; 33; 798-806
- Van Gool, W.A., D. van de Beek, and P. Eikelenboom, Systemic infection and delirium: when cytokines and acetylcholine collide. *Lancet*, 2010. 375(9716): p. 773-5.
- Weksler et al.: Blood-brain barrier-specific properties of a human adult brain endothelial cell line. *FASEB J* 2005 Nov;19(13):1872-4
- Westermann et al.: Mitochondrial fusion and fission in cell life and death. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010Dec ; 11(12):872-84

REIVINDICACIONES

- 1.- Composición gaseosa que contiene argón gaseoso para un uso por inhalación para prevenir o tratar al menos una consecuencia neurológica secundaria a un choque séptico en un paciente.
- 5 2.- Composición para un uso según la reivindicación precedente, caracterizada porque contiene entre 15 y 80% en volumen de argón.
- 3.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque contiene al menos 20% en volumen de argón, preferiblemente al menos 30% en volumen de argón.
- 4.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque contiene menos de 75% en volumen de argón.
- 10 5.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el choque séptico se debe a la presencia en la sangre de una o varias endo- o exotoxinas.
- 6.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el choque séptico se debe a la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano, vírico, parasitario o procedentes de una levadura.
- 15 7.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el choque séptico se debe la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano.
- 8.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque al menos una consecuencia neurológica es un fenómeno inflamatorio susceptible de producir una o varias lesiones neurológicas.
- 20 9.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque contiene además de oxígeno, preferiblemente al menos 21% en volumen de oxígeno.
- 10.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque contiene además un compuesto adicional seleccionado del grupo formado con N₂O, He, Ne, NO, CO y N₂.
- 25 11.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque está constituida por argón y oxígeno.
- 12.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque está constituida por argón, nitrógeno y oxígeno.
- 13.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque está exenta de xenón.
- 30 14.- Composición para un uso según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque el choque séptico afecta a al menos otro órgano distinto del cerebro, seleccionándose dicho órgano de entre el hígado, riñones, pulmones y corazón.