

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 634 388**

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/FR2013/051623**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.04.2014 WO14057180**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.07.2013 E 13744714 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 2906230**

54 Título: **Utilización de una mezcla argón/xenón para prevenir o tratar las consecuencias neurológicas de un choque séptico**

30 Prioridad:

09.10.2012 FR 1259590

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

27.09.2017

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 2 634 388 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 una mezcla argón/xenón para prevenir o tratar las consecuencias neurológicas de un choque séptico

La invención se refiere a la utilización de una mezcla de argón y de xenón gaseosos para fabricar todo o parte de un medicamento inhalable destinado a tratar y/o prevenir cualquier consecuencia neurológica relacionada con un choque séptico.

Un choque séptico o infeccioso es el resultado de la presencia en la sangre de toxinas bacterianas que conduce a una insuficiencia del funcionamiento cardíaco, a una oliguria o disminución de la cantidad de orina eliminada, y una acidosis metabólica o disminución del pH del organismo, sobreviniendo todo en un sujeto, es decir, un ser humano, cuya temperatura es superior a aproximadamente 38,9°C.

Un choque séptico es debido principalmente a bacterias gram(-), principalmente enterobacterias, tales como *Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacteroides fragilis*..., y en este caso la toxina es una endotoxina, o bacterias gram(+), tales como pneumococos, estreptococos, estafilocos..., y en este caso la toxina es una exotoxina. El choque séptico puede ser causado también por una levadura, por ejemplo de tipo *Candida*, un virus o un parásito, por ejemplo *Plasmodium falciparum*.

El choque séptico es un problema importante de salud pública puesto que contabiliza aproximadamente 75.000 casos al año en Francia, y es una de las principales causas de mortalidad, especialmente en cuidados intensivos.

Por lo tanto, se estima en 26% el número de muertes en cuidados intensivos que están relacionadas con un choque séptico, independientemente de su etiología primaria, según Annane et al., *Lancet* 2005. Además, casi el 60% de los pacientes que han sufrido un choque séptico, pero que han sobrevivido presentan graves deficiencias neurológicas que pueden confundirse con signos de una encefalopatía o de un delirio grave, como recuerdan Eidelman et al., *JAMA* 1996. Además, del 30 al 50% de los pacientes que sobreviven presentan secuelas neurológicas a largo plazo, como trastornos 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 del tipo de trastornos psicocognitivos asociados a la encefalopatía séptica, lo que requiere prevenir y tratar estas lesiones.

Esto explica el aumento de trabajos clínicos sobre este tema, pero actualmente todavía no existe ningún tratamiento específico de la encefalopatía y las últimas moléculas probadas se han revelado ineficaces o incluso han provocado efectos secundarios nefastos para los pacientes, tal y como recuerda MJ van Eijk et al., *Lancet*, 2010.

La no existencia de una terapia eficaz se explica principalmente por una falta de comprensión de los mecanismos fisiopatológicos implicados en los choques sépticos.

Recientemente se ha sugerido que las alteraciones de la membrana encéfalo-hematológica resultantes de la activación de las subpoblaciones de células cerebrales, principalmente las células microgliales y endoteliales, podría explicar estas anomalías debido a un aumento de la liberación de mediadores de la inflamación y sustancias neurotóxicas en el cerebro, como explica van Gool WA et al., *Lancet* 2010; y Iacobone et al., *Crit Care Med* 2009.

Se ha demostrado que ciertas deficiencias o fallos que afectan al cerebro podrían ser tratados con ayuda de gases inhalados. Así, el documento EP-A-1158992 propone utilizar xenón inhalado para luchar contra las neurointoxicaciones cerebrales, principalmente isquémicas, que se caracterizan por una disfunción cerebral de uno o de varios sistemas de neurotransmisión.

Además, el documento WO-A-2005/039600 enseña el uso de xenón, opcionalmente con nitrógeno, oxígeno o aire añadidos, para luchar contra las septicemias intestinales, por inyección directamente en el intestino, de xenón gaseoso o en forma de una solución saturada en xenón.

El documento US-A-2005/0255169 se refiere al uso de xenón como coadyuvante de otro medicamento en la administración oral o parenteral, particularmente en el tratamiento de choques sépticos. El xenón puede tener añadido opcionalmente otro gas raro, a saber helio.

Además, el documento EP-A-1541156 propone utilizar argón inhalado para luchar contra dichas neurointoxicaciones cerebrales. También se evaluó el potencial neuroprotector del argón gaseoso, administrado solo o mezclado con óxido nitroso, en el desarrollo y la expresión de la sensibilización a la D-anfetamina.

Sin embargo, los mecanismos de acción del argón, son incluso poco conocidos y podrían estar basados en una acción agonista de los receptores GABA_A, principalmente del sitio de las benzodiazepinas, como describe J. Abraini et al., *Anesth Analg*, 2003, 96: 746-749.

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

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

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

10 Como se muestra, la mayor parte de los tratamientos gaseosos propuestos tienen como objetivo tratar deficiencias o fallos esencialmente cerebrales, es decir, que afectan al cerebro, pero estos documentos no proponen preservar el cerebro, en caso de fenómenos inflamatorios responsables de lesiones neurológicas, a corto y largo plazo, particularmente cuando son el resultado o la consecuencia de un choque séptico, en particular un choque séptico causado por la presencia en la sangre de uno o varias endotoxinas o exotoxinas.

15 El problema, por tanto, es proporcionar un tratamiento preventivo y/o curativo que permita tratar y/o prevenir las consecuencias neurológicas secundarias a un choque séptico o infeccioso, es decir, los daños o lesiones neurológicas susceptibles de ser generados por un choque séptico o ser el resultado del mismo.

La solución de la invención es por tanto una composición gaseosa que contiene una mezcla de argón y xenón gaseosos para uso por inhalación para prevenir o para tratar la o las consecuencia(s) neurológica(s) secundaria(s) a un choque séptico en un paciente.

20 En efecto, en el marco de la presente invención, se ha puesto de manifiesto que una mezcla gaseosa de argón y xenón es capaz de preservar el cerebro de fenómenos inflamatorios responsables de lesiones neurológicas, a corto y largo plazo, en caso de choque séptico.

Según el caso, la composición gaseosa o medicamento gaseoso inhalable de la invención puede comprender una o varias de las características siguientes:

- 25 – la composición gaseosa contiene una cantidad eficaz de xenón y de argón gaseosos, es decir al menos 5% en volumen de xenón y al menos 5% en volumen de argón, ventajosamente al menos 7% en volumen de xenón y al menos 7% en volumen de argón.
- la composición gaseosa contiene entre 15 y 80% en volumen de una mezcla de argón y de xenón.
- la composición gaseosa contiene al menos 20% en volumen de una mezcla de argón y de xenón.
- la composición gaseosa contiene al menos 30% en volumen de una mezcla de argón y de xenón.
- 30 – la composición gaseosa contiene menos de 75% en volumen de una mezcla de argón y de xenón.
- el choque séptico resulta de la presencia en la sangre de una o varias toxinas, principalmente de una o varias toxinas de origen bacteriano, viral, parasitario o procedentes de una levadura.
- el choque séptico resulta de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano, en particular de bacterias gram-negativas (G-), principalmente bacterias de tipo enterobacterias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Serratia*, *Bacteroides fragilis*...). En este caso, la toxina es una endotoxina.
- 35 – el choque séptico resulta de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de origen bacteriano, en particular de bacterias gram-positivas (G+), principalmente de bacterias del tipo pneumococos, estreptococos, estafilococos.... En ese caso, la toxina es una exotoxina.
- el choque séptico resulta de la presencia en la sangre de una o varias toxinas de levadura, tal como una *Candida*, o de origen viral o parasitario, principalmente un parásito del tipo *Plasmodium falciparum*.
- 40 – el choque séptico afecta a uno o varios órganos además del cerebro, en particular el hígado, los riñones, los pulmones y/o el corazón.
- la composición gaseosa contiene además oxígeno, de preferencia al menos 21% en volumen de oxígeno.
- 45 – la composición gaseosa contiene además un compuesto adicional elegido en el grupo formado por He, Ne, NO, CO y N₂.
- el xenón se administra al paciente, una o varias veces al día durante un tiempo de inhalación de 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 aire.
- la composición gaseosa está formada por una mezcla gaseosa ternaria constituida por xenón, argón y el resto oxígeno.
- 5 – la composición gaseosa está formada por una mezcla gaseosa cuaternaria constituida por xenón, argón, nitrógeno y oxígeno.
- la composición gaseosa es un medicamento gaseoso listo para empleo.
- la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas que tiene un contenido (equivalente en agua) que va hasta 50 litros, típicamente del orden de 15 litros.
- 10 – 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 bares.
- la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas equipada con un grifo o con un grifo con descompresor integrado que permite controlar el caudal y eventualmente la presión del gas suministrado.
- 15 – la composición gaseosa está acondicionada en una botella de gas de acero, de aluminio o de materiales compuestos.

En otras palabras, la invención se refiere también a un uso de una mezcla de argón y xenón gaseosos para fabricar una composición medicamentosa inhalable según la invención destinada a prevenir o a tratar las consecuencias neurológicas secundarias a un choque séptico.

20 En general, durante el tratamiento, la administración de la composición gaseosa al paciente es por inhalación, por ejemplo, por medio de un ventilador, un nebulizador o espontáneamente con botellas de gas preacondicionadas conectadas a una máscara facial o nasal o cánulas nasales.

25 La duración de la administración depende de la duración del choque séptico, elegida caso por caso que afecta al paciente particular, por ejemplo la mezcla de argón y xenón se puede administrar durante un periodo de administración de algunos minutos a algunas decenas de minutos o incluso horas, por ejemplo menos de una hora, a una frecuencia que puede alcanzar de hasta una a varias veces al día y con una duración total de tratamiento de uno o más días o semanas.

La mezcla de argón y xenón que forma la composición gaseosa de la presente invención está preferiblemente acondicionada en botellas de gas a presión o en forma líquida, por ejemplo en una botella de uno a varios litros (que contiene agua) y a una presión comprendida entre 2 y 300 bares.

30 La mezcla de argón y xenón se puede presentar en forma "lista para empleo", por ejemplo en pre-mezcla con oxígeno, o después se puede mezclar *in situ* durante su uso, especialmente con oxígeno y eventualmente otro compuesto gaseoso, por ejemplo nitrógeno.

En el contexto de la invención, el paciente es un ser humano, es decir, un hombre o una mujer, incluyendo niños, adolescentes o cualquier otro grupo de individuos, por ejemplo recién nacidos o ancianos.

35 Ejemplo

Para demostrar la eficacia de xenón en el tratamiento o la prevención de las consecuencias de un choque séptico, se evaluaron los acontecimientos precoces que conducían a una encefalopatía en el marco de un choque séptico y los efectos de una mezcla de argón y xenón gaseosos sobre los mecanismos en 3 etapas:

- 40 – Activación precoz de las 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 hemato-meníngea es todavía estanca en ratones CX3CR1^{GFP/+}.
- Efectos de la mezcla de argón y xenón en un modelo *in vitro* de cultivos primarios de células microgliales de cerebros sanos y de cerebros sépticos.
- Prueba de concepto en una inflamación central y periférica en un modelo animal de choque séptico.

45 Durante las fases iniciales de la sepsis, es decir, los 4 primeros días se evaluó en un modelo animal relevante y validado, la reacción del tejido nervioso estudiando especialmente la activación microglial, tal como modificaciones morfológicas, modificaciones del estado mitocondrial y de sus biosíntesis *in situ* de los mediadores de la inflamación (estudios proteómicos y genómicos).

Se estudió *in vitro* el efecto de la mezcla de argón y xenón sobre la modulación de la actividad microglial.

Se evaluaron células extraídas de cerebros de ratones CX3CR1^{GFP/+} que habían estado expuestas a xenón gaseoso y la liberación de mediadores de la inflamación y su estado mitocondrial.

5 A continuación, se estudió el efecto de la mezcla de argón y xenón en un estudio *in vivo* en animales sépticos y en controles. En particular, se evaluaron el comportamiento clínico, la mortalidad y las modificaciones neuropatológicas, tales como la pérdida neuronal, la activación microglial y de los astrocitos y la neuroinflamación.

10 El choque séptico se creó por ligadura del ciego seguido por una abertura de este último en la cavidad peritoneal en ratones C57BL/6 y una raza genéticamente modificada (*knock-in mice CX3CR1^{GFP/+}*). Esta raza de ratones posee una fluorescencia de proteína fluorescente verde (GFP) en las células microgliales. Su expresión varía y está correlacionada con la intensidad de la activación de las células microgliales.

Los efectos de la mezcla de argón y xenón se evaluaron en las modulaciones de las modificaciones neuropatológicas y la neuroinflamación.

Durante el choque séptico, se estudiaron:

- la tasa de supervivencia, la recuperación postoperatoria y, especialmente, el impacto sobre el comportamiento;
- 15 – la activación de las células microgliales, el nivel de apoptosis (CD45, antígeno MHC de clase 1, caspasa activada 3, fragmentación de DNA), la producción de los mediadores de la inflamación, NO y ROS;
- el impacto neuropatológico (neurotoxicidad, muerte neuronal, y proliferación de astrocitos).

Los resultados obtenidos se dan a continuación.

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

20 La Tabla I siguiente ilustra la liberación de mediadores de la inflamación y su estado mitocondrial después de una puesta en contacto con aire, nitrógeno y, a título comparativo, con una mezcla de argón y de xenón según la presente invención.

25 Una respuesta favorable se designa por un signo (-) correspondiente a una prueba de ralentización de la actividad, mientras que una respuesta desfavorable se designa por un signo (+) correspondiente a una señal de crecimiento de la actividad.

Tabla I

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

Estudio *in vivo*

30 La Tabla II siguiente ilustra el comportamiento clínico, la mortalidad y las modificaciones neuropatológicas en animales que resultan de una puesta en contacto con aire, nitrógeno y, a título comparativo, con una mezcla de argón y de xenón según la presente invención.

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

Tabla II

	Comportamiento clínico	Mortalidad	Modificación neuropatológica.
Grupo de control con AIRE	+	++	+++
Grupo con NITRÓGENO	+	+	++
Grupo con XENÓN	-	--	--

5 A la vista de las Tablas I y II se comprueba que la mezcla de argón y de xenón permite luchar eficazmente contra los choques sépticos en los animales sometidos a ensayos..

Bibliografía

- Annane D, Bellissant E, Cavailon JM: Septicshock. *Lancet* 2005, 365:63-78.
- Eidelman LA, Putterman D, Putterman C, Sprung CL: The spectrum of septicencephalopathy. Définitions, etiologies, and mortalities. *JAMA* 1996, 275:470-473.
- 10 - 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: Sepsis associated encephalopathy 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.
- 15 - 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 green fluorescent 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.
- 20 - Kakkar P, Singh BK.: Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control. *Mol Cell Biochem.* 2007 Nov ; 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.
- 25 - San José 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):pp. 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): pp. 773-5.
- 30 - 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.* 2010 Dec ; 11(12):872-84.

REIVINDICACIONES

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