(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 662 868**

(51) Int. CI.:

***A61K 31/325*** (2006.01)
***A61K 31/46*** (2006.01)
***A61P 25/00*** (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 14002959 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.12.2017 EP 2813225**

(54) Título: **Procedimiento para el tratamiento de una intoxicación por una sustancia organofosforada**

(30) Prioridad:

**24.09.2004 US 613121 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
**10.04.2018**

(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 U.S. ARMY MEDICAL RESEARCH INSTITUTE, OF CHEMICAL DEFENSE, U.S. ARMY MEDICAL RESEARCH AND MATERIAL COMMAND (50.0%)**

(72) Inventor/es:

**ADLER, MICHAEL;**
**ALBUQUERQUE, EDSON X. y**
**PEREIRA, EDNA F. R.**

(74) Agente/Representante:

**MILTENYI, Peter**

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**

Procedimiento para el tratamiento de una intoxicación por una sustancia organofosforada.

La presente invención se refiere a un compuesto para utilizarse en el tratamiento de una intoxicación por una sustancia organofosforada en un animal, en particular un mamífero, específicamente un ser humano.

Los compuestos organofosforados (OPs), debido a su estado físico y alta lipofilia, penetran rápidamente y se acumulan en el sistema nervioso central (SNC). La intoxicación por una OP de personal militar en el campo de batalla y de ciudadanos comunes en el caso de un ataque terrorista con gas nervioso, por ejemplo, ha provocado un aumento en la preocupación por las autoridades públicas y gubernamentales de todo el mundo en los últimos años. Además, el aumento de la demanda de alimentos y cultivos ornamentales ha dado lugar a un aumento en el uso de pesticidas a base de anticolinesterasa (anti-ChE), incluyendo OPs tales como paratión y malatión, en países desarrollados y en desarrollo. Esto ha dado lugar a un aumento en la intoxicación accidental de agricultores y jardineros.

Desde hace tiempo se sabe que los principales efectos tóxicos de los OPs y otros agentes anti-ChE provocan de la inhibición de la enzima ChE, que es responsable de la inactivación de la acetilcolina neurotransmisora (ACh) en el SNC y el sistema nervioso periférico (SNP), aumentando y prolongando anormalmente las respuestas colinérgicas muscarínica y nicotínica. Desafortunadamente, los métodos actuales para tratar o prevenir los efectos tóxicos de los OPs se encuentran todavía lejos de ser aceptables, particularmente en el caso de una exposición aguda a agentes nerviosos que son altamente absorbibles y de fácil acceso para el cerebro.

Los inhibidores reversibles de ChE, tales como bromuro de piridostigmina (PB), fisostigmina y huperzina, se han probado como terapia con antídotos contra la intoxicación por una OP. El PB se ha utilizado como tratamiento preventivo por soldados en el campo. Si bien es un poderoso agente anti-ChE, su acción se limita principalmente al SNP, debido al hecho de que se trata de una molécula cargada que apenas penetra en el SNC. Por lo tanto, el PB no confiere de manera efectiva la protección del ChE cerebral contra gases nerviosos. La fisostigmina es más efectiva que el PB, pero menos segura. Por lo tanto, actualmente no existe un método para proteger al cerebro de la inhibición irreversible de ChE los OPs. Por el contrario, aquellos individuos que han estado expuestos a OP, han sido tratados después de la exposición con agentes antimuscarínicos, tales como atropina, reactivadores de ChE, tales como oximas, por ejemplo, piridina-2-aldoxima (2-PAM) y anticonvulsivos, tal como, por ejemplo, Diazepam.

En vista de lo anterior, un objetivo de la presente invención es disponer un compuesto para utilizarse en el tratamiento de la intoxicación por una OP. Éste y otros objetos y ventajas, así como características inventivas adicionales, serán claros a partir de la descripción detallada que se da aquí.

La presente invención se basa, por lo menos en parte, en el sorprendente e inesperado descubrimiento de que puede administrarse un alcaloide terciario, tal como la galantamina, a un animal, en particular un mamífero, específicamente un humano, con riesgo de intoxicación por una OP para proteger el animal de intoxicación por una OP. Si bien la galantamina es un inhibidor de ChE más débil en comparación con PB y fisostigmina, se trata de una molécula no cargada y, por lo tanto, tiene la capacidad de atravesar la barrera hematoencefálica. La galantamina también funciona como ligando potenciador alostérico (LPA) de receptores nicotínicos (nAChR), y es capaz de "rescatar" algunos receptores nicotínicos de desensibilización. Esta propiedad es importante en el contexto de la intoxicación por una OP cuando el exceso de ACh induce la desensibilización masiva de nAChR.

En vista de lo anterior, la presente invención presenta galantamina y un agente antimuscarínico para utilizarse de acuerdo con la reivindicación 1 y el uso de galantamina y un agente antimuscarínico para la preparación de un medicamento de acuerdo con la reivindicación 2. Este compuesto para utilizarse o el uso comprende la administración a un mamífero en riesgo de intoxicación por una OP de una cantidad de galantamina que inhibe la intoxicación por una OP, con lo que se protege al mamífero de la intoxicación por una OP después de la exposición a una OP. La galantamina se administra al mamífero antes de la exposición a una OP.

El compuesto para utilizarse o el uso comprende, además, administrar posteriormente al mamífero una cantidad efectiva de un agente antimuscarínico, tal como atropina.

Un mamífero está en riesgo de intoxicación OP si actualmente está expuesto o está en riesgo de estar expuesto a un nivel de OP que es lo suficientemente alto como para intoxicar al mamífero. Tal riesgo existe para personal militar en el campo de batalla, ciudadanos comunes en el caso de un ataque terrorista con gases nerviosos, y agricultores y jardineros que trabajan con alimentos y cultivos ornamentales tratados con pesticidas anti-ChE.

Una cantidad de galantamina es una "cantidad inhibidora de la intoxicación por una OP" o una "cantidad efectiva" cuando es suficiente para disminuir significativamente, preferiblemente por completo, los efectos perjudiciales de la

exposición a OP tal como lo demuestran los signos de mala salud, cualquier signo hipercolinérgico periférico y central de intoxicación por una OP, tales como hipersecreción, contracción muscular, dificultades respiratorias, convulsiones, o anomalías del comportamiento. Las cantidades de galantamina que son suficientes para inhibir la intoxicación por una OP pueden determinarse de acuerdo con técnicas de búsqueda de rangos de dosificación que son conocidas en la técnica. Por ejemplo, una dosis óptima puede determinarse por un médico experto en un entorno clínico o en el campo. Generalmente, las dosis óptimas se determinan modificando incrementalmente una dosis inicial hasta que se alcanza el efecto óptimo bajo las circunstancias. Dosis de galantamina, tal como el bromhidrato de galantamina, que oscilan entre 5 mg/kg y 8 mg/kg evitan eficazmente la toxicidad y la letalidad inducidas por dosis letales de los agentes nerviosos somán y sarín si se administra también 10 mg/kg de atropina, tal como sulfato de atropina. La galantamina es una terapia con antídotos efectiva cuando se utiliza de manera aguda durante hasta 1 hora antes o hasta 5 minutos después de la exposición a una OP.

La galantamina está disponible en el mercado de Hande Industry & Trade Holdings Co., Ltd., Shenzhen, China, entre otros. Deseablemente, la galantamina es adecuada para la administración a un animal, tal como un mamífero, en particular un humano, como una composición farmacéutica. La formulación de composiciones farmacéuticas es conocida en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, Mack Pub. Co.) La galantamina está actualmente disponible como una composición farmacéutica con el nombre Reminyl® (Janssen-Cilag, Ltd., Reino Unido) para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

La galantamina puede administrarse por cualquier vía de administración adecuada tal como es conocido en la técnica. Las vías de administración preferidas incluyen oral e intramuscular. La vía de administración dependerá, en parte, de las circunstancias de riesgo de exposición. Por ejemplo, la administración oral puede preferirse para el tratamiento previo de una exposición prevista, como en el caso de trabajadores agrícolas y otros individuos que manipulan insecticidas de OP regularmente, por ejemplo, diariamente.

Si el mamífero está expuesto a una OP después de la administración de galantamina, preferiblemente, se administra una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico, tal como atropina, al mamífero tan pronto como sea posible después de la exposición al OP. El agente antimuscarínico puede administrarse por cualquier ruta adecuada. La administración intramuscular es normalmente preferida. Una cantidad de un agente antimuscarínico, tal como atropina, es una "cantidad efectiva" cuando es suficiente para inhibir, preferiblemente prevenir, cualquier efecto adverso de la exposición a una OP. Se puede determinar una cantidad eficaz de un agente antimuscarínico de acuerdo con las técnicas de búsqueda de rango de dosificación que se conocen en la técnica. Por ejemplo, una dosis óptima puede ser determinada por un médico experto en un entorno clínico o en el campo. Generalmente, las dosis óptimas se determinan modificando incrementalmente una dosis inicial hasta que se alcanza el efecto óptimo bajo las circunstancias. Como se mencionó anteriormente, aproximadamente 10 mg/kg es la dosis más efectiva de atropina, como el sulfato de atropina, cuando la galantamina, como el hidrobromuro de galantamina, se administra en una dosis de 5 mg/kg a 8 mg/kg.

La atropina está disponible en Sigma Chemical Co. (St. Louis, MO). Deseablemente, la atropina u otro agente antimuscarínico es adecuado para la administración a un animal, tal como un mamífero, en particular un humano, como composición farmacéutica (véase, por ejemplo, Remington, *supra*).

EJEMPLOS

Los siguientes ejemplos sirven para ilustrar la presente invención.

Ejemplo 1
Este ejemplo demuestra la efectividad del pretratamiento con galantamina en un mamífero expuesto posteriormente a una OP.

Se administró galantamina (4-10 mg/kg) (por vía intramuscular) a cobayas (machos jóvenes que pesaban 300-420 g) 30 minutos antes o 5 minutos después de la exposición de los cobayas a 1,5-2,0 x la dosis letal del 50% (LD50) de somán (42 o 56 µg/kg de inyección subcutánea) o sarín (63 o 73,5 µg/kg de inyección subcutánea). Se administró sulfato de atropina (6-16 mg/kg) (por vía intramuscular) a algunos de los cobayas 1-2 minutos después de la administración del agente nervioso somán o sarín. Simultáneamente con o después de (por ejemplo, en aproximadamente 4 minutos) la administración de atropina, algunos de los cobayas recibieron galantamina (por vía intramuscular). Unos cobayas de control recibieron galantamina (4-8 mg/kg), atropina (6-16 mg/kg), una combinación de los mismos, o solución salina. La supervivencia y el peso corporal se siguieron durante por lo menos una semana.

Se descubrió que la galantamina protege a los cobayas contra dosis letales de somán o sarín. Un tratamiento que consistió en 5-8 mg/kg de galantamina y 10 mg/kg de atropina protegió completamente los cobayas contra la toxicidad y la letalidad inducida por 1,5 x LD50s de somán y sarín. La galantamina no solo protegió completamente

los cobayas contra la muerte, sino que, poco después de la inyección de OP, los cobayas no mostraron ningún signo hipercolinérgico periférico y central de intoxicación por una OP, tales como hipersecreción, contracción muscular, dificultades respiratorias, convulsiones, o anomalías del comportamiento, y, durante el período de observación de hasta 1-2 semanas, no mostraron signos de mala salud. Aquellos cobayas que recibieron somán o sarín, seguido de sulfato de atropina, presentaron síntomas potencialmente mortales en 10-20 min y se sacrificaron según el protocolo aprobado por IACUC para el cuidado y la manipulación de animales.

En las primeras 24 horas, todos los cobayas que recibieron OP mostraron una pérdida de peso de un 5-10%; sin embargo, en los días siguientes, los cobayas ganaron peso. Con dosis de galantamina que proporcionan protección parcial, algunos cobayas mostraron signos de intoxicación por una OP. Estos cobayas tenían síntomas que ponían en peligro la vida en cuestión de horas o días después de la exposición a OP y se sacrificaron según el protocolo aprobado por IACUC para el cuidado y la manipulación de animales. Estos cobayas mostraron diferentes grados de toxicidad OP y no recuperaron sus pesos corporales. Sin embargo, después de 3-4 días tras la prueba OP, no se registraron más muertes. Unos cobayas de control que recibieron 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 u otros efectos adversos o signos de intoxicación.

Cuando los cobayas fueron sacrificados por decapitación después una anestesia profunda con $CO_2$, se extrajeron muestras de sangre (obtenidas por punción cardíaca) y cerebros completos, y se congelaron inmediatamente en hielo seco para el análisis posterior de la inhibición de la colinesterasa y niveles de galantamina. Las mediciones iniciales indicaron que la inyección intramuscular de 8 mg/kg de galantamina dio como resultado concentraciones plasmáticas y cerebrales del agente de aproximadamente 1-3 μM, que son similares a las concentraciones de galantamina observadas en el plasma de humanos tratados con dosis de galantamina clínicamente recomendadas para tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Las concentraciones de galantamina en el cerebro son suficientes para evitar la desensibilización de nAChR por niveles crecientes de ACh que resultan de la inhibición irreversible inducida por una OP de colinesterasas. La inhibición de la colinesterasa en el cerebro se encontraba en el rango de entre un 20% y < 1% de la concentración más alta a la más baja medida de galantamina. Incluso cuando la inhibición de la colinesterasa cerebral era insignificante, la galantamina aún detuvo la toxicidad inducida por una OP.

Los cerebros de aquellos cobayas que se protegieron con éxito de la intoxicación por una OP por pretratamiento o postratamiento con galantamina se compararon morfométricamente con los de los cobayas de control utilizando coloración Fluoro Jade B. La viabilidad neuronal y las estructuras fueron muy similares en los cerebros de control y los animales expuestos a OP (tratados con galantamina + atropina).

Ejemplo 2 (Ejemplo de referencia)
Este ejemplo demuestra la efectividad de post-tratamiento con galantamina en un mamífero, que ha sido expuesto a una OP.

Se administró Somán (42 μg/kg) (por vía subcutánea) a cobayas (machos jóvenes que pesaban 300-420 g). Después de 1 minuto, se administró atropina (10 mg/kg) (por vía intramuscular) a los animales. Simultáneamente con o posteriormente a (por ejemplo, 4 minutos más tarde) la administración de atropina, se administró galantamina (8-10 mg/kg) (por vía intramuscular) a los animales. La administración de 8-10 mg/kg de galantamina dentro de los 5 min de la administración de somán proporcionó una protección del 100%. En cambio, la administración de 6 mg/kg de galantamina dentro de los 5 min de la administración de somán solo proporcionó aproximadamente un 35% de supervivencia. En las primeras 24 horas, todos los cobayas mostraron una pérdida de peso de aproximadamente 5%; sin embargo, en los días siguientes, los cobayas ganaron peso a la misma velocidad que los animales de control que no fueron expuestos a OP.

El uso de los términos "un" y "uno/a" y "el/la" y referentes similares en el contexto de la descripción de la invención (especialmente en el contexto de las siguientes reivindicaciones) deben interpretarse que cubren tanto el singular como el plural, salvo que se indique de otra manera aquí o si se contradice claramente por contexto. La indicación de intervalos de valores aquí sólo pretende servir como un método de abreviatura para referirse individualmente a cada valor separado que se encuentre dentro del intervalo, salvo que se indique lo contrario aquí, y cada valor separado se incorpora en la memoria como si se indicar aquí individualmente. Todos los procedimientos descritos aquí pueden realizarse en cualquier orden adecuado salvo que se indique lo contrario aquí o si se contradice claramente por contexto. El uso de cualquiera y todos los ejemplos, o el lenguaje de ejemplo (por ejemplo, "tal como") que se da aquí, pretende meramente aclarar mejor la invención y no pone ninguna limitación en el alcance de la invención salvo que se afirme lo contrario. Ningún lenguaje en la memoria debe interpretarse como que indica cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención.

**REIVINDICACIONES**

1. Galantamina y un agente antimuscarínico para utilizarse para prevenir o tratar una intoxicación por una sustancia organofosforada (OP), que comprende administrar una cantidad inhibidora de intoxicación por una OP de galantamina a un mamífero antes de la exposición a una OP y posteriormente administrar una cantidad efectiva de un agente antimuscarínico después de la exposición a una OP.

2. Uso de galantamina y un agente antimuscarínico para la preparación de un medicamento para prevenir o tratar una intoxicación por una sustancia organofosforada (OP), que comprende administrar una cantidad inhibidora de intoxicación por una OP de galantamina a un mamífero antes de la exposición a una OP y posteriormente administrar una cantidad efectiva de un agente antimuscarínico después de la exposición a una OP.

3. Galantamina y un agente antimuscarínico para utilizarse o uso de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el agente antimuscarínico es atropina.

4. Galantamina y un agente antimuscarínico para utilizarse o uso de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la vía de administración para galantamina es oral y para el agente antimuscarínico es intramuscular.