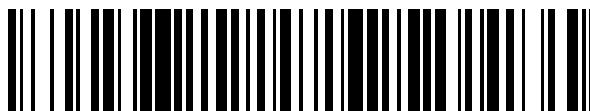


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 719 054**

51 Int. Cl.:

A61K 33/36 (2006.01)

A61P 17/00 (2006.01)

A61P 17/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.04.2014** **PCT/EP2014/058420**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.10.2014** **WO14174059**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.04.2014** **E 14720568 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2019** **EP 2988757**

54 Título: **Tratamiento de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias con el compuesto de arsénico As₂O₅**

30 Prioridad:

26.04.2013 FR 1353870

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.07.2019

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris , FR y
UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11 (50.0%)**

72 Inventor/es:

**BENBIJJA, MOHCINE y
BOBE, PEDRO**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 719 054 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

Tratamiento de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias con el compuesto de arsénico As₂O₅

La invención se refiere al campo de las enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias humanas, más específicamente a la utilización de compuestos de arsénico para la preparación de medicamentos para el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades de tipo esencialmente autoinmunitario o inflamatorio o de tipo autoinmunitario pero con un fuerte componente inflamatorio responsable de su iniciación y de algunas lesiones hícticas.

Las enfermedades autoinmunitarias representan un grupo heterogéneo de enfermedades del sistema inmunitario caracterizadas por la producción por parte del sujeto de anticuerpos dirigidos contra si mismo (también llamados autoanticuerpos), es decir, que reaccionan con los antígenos del propio sujeto. Algunas de estas enfermedades a veces también se han clasificado como enfermedades inflamatorias, en la medida en que también implican los llamados mecanismos disimunitarios.

Las enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias más corrientes son: lupus eritematoso generalizado, el lupus eritematoso agudo diseminado, uveítis, enfermedad de Bechet, sarcoidosis, síndrome de Sjögren, poliartritis reumatoide, poliartritis juvenil, síndrome de Fiessinger-Leroy-Reiter, gota, osteoartritis, polimiositis, miocarditis, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, esclerosis múltiple y otras enfermedades desmielinizantes, anemia aplásica, púrpura trombocitopénica esencial, cualquier enfermedad asociada a linfoproliferación no tumoral, linfoma de linfocitos B, panhipopituitarismo de Simmonds, enfermedad de Basedow-Graves y oftalmopatía de Graves, tiroiditis subaguda y enfermedad de Hashimoto, la enfermedad de Addison, las hepatitis crónicas, la diabetes mellitus dependiente de insulina (tipo 1).

Muchas de estas patologías se caracterizan por trastornos dermatológicos, en especial, cutáneos o cutaneomucosos. Este es el caso en concreto del lupus eritematoso, esclerodermia, psoriasis, vasculitis cutánea, púrpura vascular, dermatosis vesiculares autoinmunitarias (penfigoide vesicular, penfigoide cicatricial, dermatitis con IgA lineal, dermatitis herpetiforme, epidermolisis vesicular adquirida, pénfigo y su variantes), dermatitis (atópica, seborreica, de estasis), dermatomiositis, eritema nudoso, pioderma gangrenoso, eccema (atópico, de contacto, dishidróico), liquen plano, liquen esclero-atróico, alopecia areata.

En particular, el lupus eritematoso es una enfermedad generalizada autoinmunitaria crónica, de la familia de las conectividades, que se manifiesta de manera diferente según los individuos. Esta patología ha sido objeto de mucha investigación y, a menudo, se ha utilizado como modelo de estudio para todas las enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias que presentan lesiones cutáneas mencionadas anteriormente.

En el lupus eritematoso se distingue el lupus eritematoso cutáneo (LEC) y el lupus eritematoso diseminado (LED) o generalizado (LEG). El LEC es una afección especialmente polimórfica, convencionalmente dividida en tres grupos: LEC crónico que incluye el lupus discoide, *tumidus*, *pernio* y profundo (o paniculitis) en LEC subagudo (LECS) y LEC agudo (LECA).

Muchas manifestaciones dermatológicas también se observan durante el LEG. Se pueden clasificar esquemáticamente en tres grupos: lesiones de lupus (histología evocadora de lupus), lesiones vasculares (vasculitis cutánea) y otras manifestaciones. El examen anatomopatológico de una lesión cutánea de lupus revela lesiones epidérmicas y dérmicas: hiperqueratosis, atrofia epidérmica, degeneración de queratinocitos basales, engrosamiento de la membrana basal, edema e infiltrado dérmico compuesto principalmente por linfocitos.

La asistencia del LEG requiere un tratamiento de fondo, generalmente a base de hidroxycloquina, cloquina o corticoides por vía general. (Liste des actes et prestation ALD 21 – “Lupus érythémaeux systémique”, HAS enero de 2012). En el caso de lupus eritematoso discoide y cutáneo subagudo, el tratamiento de primera intención se basa en la aplicación local de agentes inmunosupresores habitualmente utilizados en dermatología, como los corticoides o tacrolimo. En caso de fracaso de los tratamientos locales, se administran tratamientos generalizados a base de hidroxycloquina y/o cloquina, o incluso talidomida (o incluso metotrexato en formas graves de la enfermedad, particularmente con el objetivo de limitar el empleo de la cortisona).

Cuando existen, los tratamientos de enfermedades autoinmunitarias y/o enfermedades inflamatorias humanas en lesiones cutáneas distintas del lupus mencionadas anteriormente, especialmente esclerodermia, psoriasis, vasculitis cutánea, púrpura vascular, dermatosis vesiculares autoinmunitarias (especialmente, penfigoide vesicular, penfigoide cicatricial, dermatitis IgA lineal, dermatitis herpetiforme, epidermolisis vesicular adquirida, pénfigo y sus variantes), las dermatitis (especialmente dermatitis atópica, dermatitis seborreica, dermatitis por estasis), dermatomiositis, eritema nudoso, *pioderma gangrenoso*, eccema (especialmente eccema atópico, dermatitis de contacto, eccema dishidróico), liquen plano, liquen esclero-atróico, y alopecia areata.

Estos tratamientos, sin embargo, tienen notables inconvenientes. En general, los inmunosupresores, al disminuir las respuestas inmunitarias de una manera no específica, exponen al cuerpo a complicaciones infecciosas víricas o bacterianas y, a más largo plazo, al desarrollo de enfermedades malignas.

Además, la toxicidad ocular de la cloroquina y la hidroxiclороquina, que conduce principalmente a la afectación de la córnea y la retinopatía, se ha descrito desde hace mucho tiempo. La retinopatía a veces es irreversible y puede llevar a una reducción significativa de la visión.

Los efectos secundarios de la administración de corticoides tanto en la aplicación generalizada como local también son bien conocidos. En particular, la administración tópica de corticoides está asociada a un mayor riesgo de infección y atrofia de la epidemia, así como a los fenómenos de taquifilaxia y del efecto de rebote. El fenómeno de la taquifilaxia se traduce en la práctica por la aparición de una tolerancia y, a largo plazo, una resistencia de la dermatosis al tratamiento después de aplicaciones prolongadas e ininterrumpidas. El efecto rebote corresponde al recrudecimiento de la dermatosis con el cese abrupto de los corticoides tópicos, después de un tratamiento prolongado.

Los efectos indeseables observados del tacrólimo consisten principalmente en una sensación de ardor, picazón o eritema en el sitio de aplicación, mientras que los efectos indeseables a largo plazo aún no se conocen bien. En cuanto al metotrexato, la importancia de sus efectos indeseables, es decir, una disminución de los glóbulos blancos, problemas digestivos (náuseas, dolor, vómitos, úlceras bucales), daño pulmonar y hepático, infecciones y pérdida de cabello, explica que su uso sigue siendo excepcional.

Se ha descrito el uso de compuestos de arsénico por vía generalizada para tratar patologías autoinmunitarias (patente europea EP 1 499 330 o US 2009/0297624). Estos tratamientos generalizados permiten la resorción de lesiones cutáneas de lupus. Sin embargo, este uso sistémico tiene el inconveniente de ser general y no específico. La aplicación local de compuestos de arsénico parece contraindicada en el caso de lesiones cutáneas, ya que se sabe que estos compuestos, y en particular el As_2O_3 , son productos irritantes, que causan un enrojecimiento en caso de contacto con la piel, incluso quemaduras. El contacto prolongado y repetido con soluciones diluidas de As_2O_3 se sabe que causa irritación de la piel y dermatitis.

Por lo tanto, existe necesidad de compuestos para tratamientos alternativos de enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias, en particular que presentan lesiones cutáneas o mucocutáneas.

Figura 1. Tratamiento tópico de lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr por el compuesto de arsénico As_2O_3 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo, la vasculitis cutánea necrotizante y la alopecia en ratones MRL/lpr hembra después de 2, 4 y 8 semanas de tratamiento tópico con 5 aplicaciones semanales de compuesto de arsénico As_2O_3 a la concentración de 0,5 mg/ml.

Figura 2. Tratamiento tópico de las lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr por el compuesto de arsénico As_2O_3 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en un ratón MRL/lpr macho después de 2, 4 y 8 semanas de tratamiento tópico con 5 aplicaciones semanales del compuesto de arsénico As_2O_3 a una concentración de 0,5 mg/ml.

Figura 3. Tratamiento tópico de lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr por un número menor de aplicaciones del compuesto de arsénico As_2O_3 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo y la vasculitis cutánea necrotizante en un ratón MRL/lpr hembra después de 2, 4 y 8 semanas de tratamiento tópico con el compuesto de arsénico As_2O_3 a una concentración de 0,5 mg/ml, a razón de 3 aplicaciones semanales.

Figura 4. Disminución gradual en el número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_3 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en un ratón MRL/lpr tratado con el compuesto de arsénico As_2O_3 a una concentración de 0,5 mg/ml, inicialmente a razón de 5 aplicaciones por semana durante 2 semanas y luego 2 aplicaciones por semana durante 5 semanas adicionales.

Figura 5. El tratamiento tópico con compuesto de arsénico As_2O_3 produce un aumento significativo en la vida útil. Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en un ratón MRL/lpr hembra tratado de forma discontinua durante 32 semanas con el compuesto de arsénico As_2O_3 . Después de 4 semanas de tratamiento, a razón de 5 aplicaciones por semana, el número semanal de aplicaciones del compuesto de arsénico As_2O_3 se redujo en primer lugar a 3 durante 6 semanas y luego a 2 durante 22 semanas más.

Figura 6. Tratamiento tópico de las lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr por el compuesto de arsénico As_2O_5 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en un ratón MRL/lpr macho tratado con 5 aplicaciones semanales del compuesto de arsénico As_2O_5 a una concentración de 0,5 mg/ml.

Figura 7. Disminución progresiva en el número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_5 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en un ratón MRL/lpr hembra tratado con el compuesto de arsénico As_2O_5 a razón en primer lugar de 5 aplicaciones por semana durante 2 semanas, luego 2 aplicaciones semanales durante 2 nuevas semanas y por último una aplicación semanal durante 5 semanas más.

Figura 8. Tratamiento por vía general de lesiones cutáneas de ratones MRL/lpr por el compuesto de arsénico As_2O_5 . Evolución de las lesiones inflamatorias del tejido cutáneo en dos ratones MRL/lpr machos (figura 8A) y dos ratones hembras (figura 8B) tratados cada semana mediante 5 inyecciones intraperitoneales de 0,1 ml por 10 g de ratón de una solución de compuesto de arsénico As_2O_5 a la concentración de 0,5 mg/ml.

Figura 9 Cuantificación del infiltrado cutáneo inflamatorio en ratones MRL/lpr tratados solamente con el compuesto de arsénico As_2O_5 o As_2O_3 o mediante la combinación de los dos compuestos As_2O_3 + As_2O_5 . El número de células

inflamatorias que se infiltran en la piel de los ratones MRL/lpr (3 hembras por grupo) se cuantificó después de 2 meses de tratamiento por vía local (figura 9A) o vía general (figura 9B) a razón de 5 aplicaciones semanales de una solución con 0,12 mg/ml de As_2O_3 o As_2O_5 (dosis subóptimas) frente a 0,5 mg/ml en las figuras 1 a 8.

5 Figura 10 Tratamiento local de lesiones cutáneas inflamatorias del ratón MRL/lpr mediante la combinación de dos compuestos As_2O_3 + As_2O_5 . Evolución de las lesiones cutáneas inflamatorias en ratones MRL/lpr hembra después de 0 (t0), 4 y 8 semanas de aplicación de una compresa inhibida de una solución que contiene una dosis subóptima (0,12 mg/ml) de As_2O_3 o As_2O_5 o la combinación de los dos compuestos As_2O_3 + As_2O_5 y esto a razón de 5 aplicaciones por semana.

10 La invención proporciona medios para remediar los inconvenientes de la técnica anterior, en especial los efectos secundarios sobre el sistema inmunitario así como el efecto de rebote observado en los tratamientos de la técnica anterior. En efecto, los inventores han descubierto inesperadamente que el compuesto de arsénico como As_2O_5 demuestra ser un excelente principio activo que es eficaz y no tiene efectos secundarios en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias.

15 Esta utilización médica es tanto más sorprendente dado que la toxicidad del compuesto de arsénico As_2O_5 para los seres humanos es bien conocida, la dosis oral letal para los seres humanos está evaluada en 5-50 mg/kg, es decir, entre 7 gotas y 1 cucharadita para un sujeto de alrededor de 75 kilos. La exposición crónica puede causar daño a los nervios en las extremidades, modificar la composición celular de la sangre y provocar cambios estructurales en los componentes de la sangre. El compuesto de arsénico As_2O_5 se ha descrito como irritante para los ojos, la nariz y la garganta, y parece *a priori* obvio que estaría contraindicado en el caso de problemas dermatológicos.

20 La invención tiene por objeto una composición que comprende una combinación de compuestos de arsénico, caracterizada porque contiene entre el 0,01% y el 0,15% del compuesto de arsénico As_2O_5 referido al peso total de la composición y entre el 0,05% y el 5% del compuesto de arsénico As_2O_3 referido al peso total de la composición.

25 La invención tiene asimismo por objeto una composición que comprende el compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico As_2O_3 , para su utilización en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.

Según otro objeto, la invención tiene por objeto productos caracterizados porque contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico adicional As_2O_3 , como producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonada en el tiempo en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.

30 Según un primer aspecto, se describe un compuesto de arsénico As_2O_5 para su utilización en el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.

35 En otras palabras, se describe la utilización del compuesto de arsénico As_2O_5 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano, así como un método para prevenir y/o tratar lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias que comprenden la administración del compuesto de arsénico As_2O_5 a un ser humano.

40 En particular, se refiere a las lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias seleccionadas entre el lupus eritematoso, esclerodermia, psoriasis, vasculitis cutánea, púrpura vascular, dermatosis vesiculares autoinmunitarias (en particular penfigoide vesicular, penfigoide cicatricial, dermatosis lineal por IgA, dermatitis herpetiforme, epidermolisis vesicular adquirida, pénfigo y sus variantes), las dermatitis (en particular dermatitis atópica, dermatitis seborreica, dermatitis por estasis) dermatomiositis, eritema nudoso, pioderma gangrenoso, eccema (especialmente eccema atópico, eccema de contacto, eccema dishidróico), liquen plano, liquen escleroatrófico y alopecia areata. Preferentemente, las lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias son las lesiones cutáneas asociadas al lupus.

45 En el sentido de la presente invención, el término "lupus" es equivalente al término "lupus eritematoso" e incluye el lupus eritematoso cutáneo (LEC) y el lupus eritematoso disseminado (LED) o generalizado (LEG). El LEC es una afección particularmente polimórfica dividida clásicamente en tres grupos: LEC crónico que incluye los lupus discoide, *tumidus*, pernicio y profundo (o paniculitis), LEC subagudo (LECS) y LEC agudo (LECA).

50 El compuesto de arsénico es particularmente interesante porque no provoca efectos indeseables ni efecto de rebote. Por lo tanto, está particularmente indicado en poblaciones especiales de sujetos como alternativa a la corticoterapia, como los sujetos que no responden o los que presentan taquifilaxia a la cortisona.

55 El compuesto de arsénico As_2O_5 , o pentóxido de arsénico, se utiliza ampliamente como herbicida y xiloprotector, así como en la fabricación de vidrio coloreado. Por lo tanto, es fácil para los expertos en la técnica obtener este compuesto, que también se puede sintetizar a partir del compuesto de As_2O_3 , o trióxido de arsénico, según métodos bien conocidos.

Según un segundo aspecto, se describe una composición que comprende un compuesto arsénico As_2O_5 , preferentemente para el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.

El compuesto, así como la composición, puede administrarse según una variedad de modos de administración, incluyendo administraciones generalizadas y tópicas. El compuesto, así como la composición, de la presente invención puede administrarse, por ejemplo, por vía general (administración polisistémica), que incluye la vía oral, la vía parenteral, la vía nasal, la vía rectal o la vía pulmonar, ya sea por vía local (administración tópica). Los expertos en la materia entenderán que pueden preverse determinadas formulaciones dependiendo del modo de administración seleccionado.

La composición está preferentemente en una forma adecuada para administración tópica, en especial dermatológica. Puede presentarse ventajosamente en todas las formas galénicas normalmente utilizadas para la aplicación tópica, especialmente en forma de una solución acuosa, hidroalcohólica o aceitosa, de una emulsión aceite en agua o agua en aceite o múltiple, de un gel acuoso o aceitoso, de un producto anhidro líquido, de un producto pastoso o sólido, de una dispersión de aceite en una fase acuosa utilizando esférulas (nanoesferas, nanocápsulas, vesículas lipídicas de un dispositivo transdérmico o en cualquier otra forma de aplicación tópica.

Esta composición puede ser más o menos fluida y tener el aspecto de una crema, una pomada, una leche, una loción, un suero, una pasta, una espuma o un gel. Opcionalmente, se puede aplicar a la piel en forma de aerosol. También puede presentarse en forma sólida, y por ejemplo en forma de un bastoncillo. También puede aplicarse mediante un parche.

En el contexto de una aplicación tópica, esta composición puede comprender además un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable, en particular un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable para administración tópica, en particular dermatológicamente aceptable, es decir un soporte compatible con la piel. Preferentemente, se utiliza un excipiente adaptado para administración por vía tópica, ventajosamente adaptado para administración dermatológica.

Los excipientes dermatológicamente aceptables pueden ser cualquier excipiente entre los conocidos por los expertos en la materia con el fin de obtener una composición para aplicación tópica en forma de crema, loción, gel, pomada, emulsión, microemulsión, aerosol, etc.

La composición puede contener en particular aditivos y adyuvantes de formulación, tales como agua, sustancias grasas, tensioactivos (emulsionantes y detergentes), espesantes, gelificantes, fijadores de agua, agentes dispersantes, estabilizantes, colorantes, perfumes y conservantes (antioxidantes, bactericidas o bacteriostáticos). Los emulsionantes adecuados incluyen, por ejemplo, ácido esteárico, trolamina o trietanolamina, estearato de PEG-40.

Según otra realización de la invención, la composición está en una forma adecuada para administración generalizada, en particular parenteral. Puede presentarse ventajosamente en todas las formas galénicas usadas normalmente para aplicación parenteral, especialmente en forma de una solución líquida, en particular acuosa. Preferentemente, la composición en una forma adecuada para administración parenteral es estéril. Preferentemente, la composición en una forma adecuada para administración parenteral está exenta de pirógenos. Por exenta de pirógenos, se entiende en el sentido de la invención que la composición según la invención no da fiebre al sujeto en las 48 horas posteriores a la administración. Preferentemente, la composición en una forma adecuada para la administración parenteral es transparente. Para los propósitos de la presente invención, por "transparente" se entiende que no comprende partículas en suspensión después de haber sido inspeccionada visualmente. Dado el caso, o para prevenir una posible contaminación de partículas, la composición se filtrará a través de un filtro estéril de 0,22 μm . Por lo tanto, según una determinada realización, la composición en una forma adecuada para administración parenteral se filtra a través de un filtro estéril cuyos poros tienen un tamaño que solo permite el paso de moléculas de 0,22 μm o menos. Preferentemente, la composición en una forma adecuada para administración parenteral tiene un pH de entre 7,3 y 7,5.

La administración parenteral puede llevarse a cabo por inyección de la composición de la invención según cualquier vía, por ejemplo, por vía subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intravascular, inyección intrarterial. Las inyecciones pueden hacerse con jeringuillas y agujas convencionales, u otros dispositivos adecuados disponibles en la técnica.

Los modos de administración, las posologías y las formas galénicas óptimas de los compuestos y las composiciones de la invención se pueden determinar según los criterios generalmente tenidos en cuenta al establecer un tratamiento farmacéutico, en especial tópico y/o dermatológico, adaptado a un paciente, como por ejemplo la edad o el peso corporal del paciente, la gravedad de su estado general, la tolerancia al tratamiento, los efectos secundarios observados.

La dosis terapéutica utilizada en el tratamiento de lesiones cutáneo-mucosales varía según la gravedad o la extensión de las lesiones y según las condiciones del tratamiento. Por lo tanto, la dosis y, dado el caso, la frecuencia, pueden adaptarse según la edad, el peso corporal, la extensión y la antigüedad de las lesiones. Además, la dosis y la frecuencia de administración pueden adaptarse para obtener una cantidad eficaz dada. Según una realización preferida de la invención, la cantidad eficaz diaria corresponde a 0,01 a 5 mg de compuesto arsénico As_2O_5 por 1 kg de peso corporal del sujeto, preferentemente 0,025 a 0,75 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por 1kg de peso corporal del sujeto.

- La composición en una forma adecuada para la administración tópica se suele administrar diariamente durante un período de 5 a 60 días a una concentración de compuesto de arsénico As_2O_5 que varía de 0,5 mg (o 0,05%) a 50 mg (o 5%) por ml o g de composición. Según una realización preferida de la invención, la cantidad efectiva diaria en el caso de administración tópica corresponde a 0,05 a 5 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por 1 kg de peso corporal del sujeto, preferentemente 0,1 a 0,5 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por 1 kg de peso corporal del sujeto. La cantidad total de composición aplicada diariamente depende de la superficie de la piel a tratar. Preferentemente, la cantidad diaria total es menor o igual a 1 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por kg de peso corporal del sujeto. Es posible efectuar tratamientos sucesivos, ventajosamente espaciados de 1 a 4 semanas durante las cuales el sujeto no ha sido tratado.
- El tratamiento se lleva a cabo preferentemente durante 5 días. Sin embargo, la dosis puede reducirse en caso de lesiones hísticas más pequeñas. Además, después de un tratamiento de ataque con alta concentración del compuesto de arsénico As_2O_5 solo o en combinación con As_2O_3 , se puede realizar un espaciamiento de la dosis incluso con interrupciones de tratamiento uniformes que pueden variar de 1 a 8 semanas, según el caso.
- La composición en una forma adecuada para administración parenteral se suele administrar diariamente durante un período de 5 a 30 días. Es posible realizar tratamientos sucesivos espaciados ventajosamente de 1 a 8 semanas durante las cuales el sujeto no recibe tratamiento. La cantidad eficaz diaria en el caso de la administración parenteral corresponde a 0,01 a 1 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por 1 kg de peso corporal del sujeto, preferentemente de 0,025 a 0,75 mg de compuesto de arsénico As_2O_5 por 1kg de peso corporal del sujeto. Preferentemente, la composición de la invención comprende entre 0,01% y 0,15% del compuesto de arsénico As_2O_5 con respecto al peso total de la composición.
- Además, el compuesto de arsénico As_2O_5 puede administrarse, dado el caso, con otros principios activos que contribuyen al tratamiento de patologías específicas, con objeto de mejorar la respuesta terapéutica del sujeto.
- Por lo tanto, según una realización concreta, la composición descrita comprende al menos un compuesto seleccionado entre corticoides, tacrólimo, hidroxicloroquina, cloroquina, talidomida, metatroxato, los compuestos que tienen una acción anti-TNF, los compuestos que tienen una acción anti-CD20, compuestos que tienen acción anti-BAFF, compuestos que tienen una acción anti-IL1, compuestos que tienen una acción anti-IL-6.
- Un determinado número de compuestos de arsénico han demostrado su interés en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, principalmente el lupus (patente europea EP 1499330). Por lo tanto, el compuesto de arsénico As_2O_5 puede administrarse en combinación con otros compuestos de arsénico que contribuyen al tratamiento de patologías autoinmunitarias y/o inflamatorias.
- Según otra realización concreta, la composición descrita comprende además al menos un compuesto seleccionado entre los compuestos de arsénico As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 . Preferentemente, la composición de la invención que comprende un compuesto de arsénico As_2O_5 comprende además al menos el compuesto de arsénico As_2O_3 .
- En otras palabras, según otra realización, la composición descrita comprende una combinación de compuestos de arsénico, cuya combinación comprende el compuesto de arsénico As_2O_5 , y además al menos un compuesto de arsénico adicional seleccionado de la lista que consiste en As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 . Preferentemente, dicha combinación comprende el compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico adicional As_2O_3 . Aún más preferentemente, dicha combinación consiste en compuesto de arsénico As_2O_5 y compuesto de arsénico adicional As_2O_3 .
- La solubilidad en agua de los diversos compuestos inorgánicos del arsénico varía considerablemente. Por ejemplo, el compuesto de arsénico As_2O_3 es poco soluble en agua (37 g/l a 20°C) o en alcohol, y por lo tanto su formulación es difícil. Los inventores han descubierto que la solubilidad del compuesto arsénico As_2O_3 puede modificarse variando las condiciones de oxidación-reducción, pH y temperatura durante la preparación de la composición. Por ejemplo, para evitar el problema de la baja solubilidad del compuesto As_2O_3 en agua, en primer lugar se disuelve a una concentración alta (60 a 70 mg/ml) en una solución alcalina diluida (0,5 M o 1 M) calentando ligeramente hasta obtener una solución transparente e incolora.
- Por lo tanto, según una determinada realización de la invención, la composición de la invención comprende además al menos el compuesto arsénico As_2O_3 y está caracterizada porque el compuesto As_2O_3 en dicha composición es capaz de ser obtenido por un procedimiento que comprende una etapa de disolución en una solución alcalina. Para los fines de la presente invención, la expresión "solución alcalina" se refiere a cualquier solución básica, es decir, cualquier solución cuyo pH sea superior a 7.
- La solución transparente de As_2O_3 se puede hacer además exenta de partículas y estéril por filtración, según cualquier técnica bien conocida por los expertos en la técnica. La solución transparente de As_2O_3 obtenida de este modo además se puede diluir en un amortiguador fosfato o en suero fisiológico estéril a una concentración que varía de 0,5 a 1,5 mg/ml para su utilización *in vivo*.
- Preferentemente, la composición de la invención comprende entre el 0,01% y el 0,15% del compuesto de arsénico As_2O_5 con respecto al peso total de la composición, y entre el 0,05% y el 5% del compuesto de arsénico As_2O_3 respecto al peso total de la composición.

Será obvio para un experto en la materia que la administración combinada de varios principios activos puede llevarse a cabo, dependiendo de las patologías específicas y su gravedad, mediante la administración conjunta de estos compuestos, o alternativamente mediante una administración alterna de cada uno de ellos por separado, por ejemplo.

5 Según una determinada realización, se describen productos que contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y al menos un compuesto seleccionado entre corticoides, tacrólimo, hidroxiclороquina, cloroquina, talidomida, metatroxato, compuestos que tienen una acción anti-TNF, compuestos que tienen una acción anti-CD20, compuestos que tienen una acción anti-BAFF, compuestos que tienen una acción anti-IL1, compuestos que tienen acción anti-IL-6 como producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonada en el tiempo en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.

10 Según una determinada realización, se describen productos que contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre los compuestos de arsénico As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 , como un producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonado en el tiempo en el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano. Dicho de otra forma, se describen productos que contienen un compuesto arsénico As_2O_5 y un compuesto de arsénico adicional seleccionado de la lista que consiste en As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 como un producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonado en el tiempo en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a estas enfermedades autoinmunes en un ser humano. Preferentemente, dichos productos de la invención contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico adicional As_2O_3 .

20 En otras palabras, se describen productos que contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre los compuestos de arsénico As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 , como producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonada en el tiempo para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.

25 Además, se describe un método para prevenir y/o tratar lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias, que comprenden la administración simultánea, por separado o escalonada en el tiempo del compuesto arsénico As_2O_5 y al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre los compuestos de arsénico As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 a un ser humano. Según una determinada realización, se describe un método para prevenir y/o tratar lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias que comprenden la administración del compuesto As_2O_5 , alternado con la administración de al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre los compuestos de arsénico As_2O_3 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 .

30 En otras palabras, se describe un método para el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano, que comprende una etapa de administración a dicho sujeto de una composición o productos según la invención. Preferentemente, la aplicación de As_2O_5 se alterna con la administración de al menos un compuesto de arsénico adicional seleccionado de la lista que consiste en As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 . Ventajosamente, la aplicación de As_2O_5 se alterna con la administración del compuesto de arsénico As_2O_3 .

35 La administración combinada del compuesto de arsénico As_2O_5 y del compuesto de arsénico As_2O_3 , en particular, hace posible evitar una posible resistencia del sujeto a uno u otro de estos compuestos de sales de arsénico, en la medida en que sus mecanismos de acción son diferentes.

40 Según una realización preferida, la invención tiene por objeto productos que contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y un compuesto de arsénico As_2O_3 como producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonada en el tiempo en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.

45 Preferentemente, los productos que contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y un compuesto de arsénico As_2O_3 como producto de combinación se administran a una dosis diaria para el compuesto de arsénico As_2O_5 comprendida entre 0,01 y 0,2 mg por 1 kg de peso corporal del sujeto a una dosis diaria de compuesto de arsénico de As_2O_3 comprendida entre 0,01 y 0,2 mg por 1 kg de peso corporal del sujeto.

50 Asimismo se describen botiquines o equipos que comprenden al menos un recipiente que contiene el compuesto arsénico As_2O_5 en una forma farmacéuticamente aceptable para su administración tópica y/o dermatológica, y ventajosamente instrucciones de uso. El botiquín puede comprender además un recipiente que contiene el compuesto de arsénico As_2O_3 . El botiquín puede comprender además medios de aplicación adecuados, tales como una pipeta graduada, una jeringuilla, una espátula, una brocha o compresas, por ejemplo.

55 Los inventores han descubierto, de manera particularmente sorprendente, que el tratamiento tópico de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano, sin efectos secundarios significativos, podría usarse ventajosamente.

i. al menos el compuesto As_2O_5 , opcionalmente asociado a otros compuestos de arsénico, como se describe anteriormente, o, alternativamente,

ii. uno o más de dichos otros compuestos de arsénico.

5 La utilización de tales compuestos por vía tópica aparece sin embargo contraintuitiva en la medida en que estos compuestos son conocidos por su alta toxicidad, y en particular por su naturaleza irritante que origina dermatitis de contacto y otras irritaciones de las mucosas.

Por lo tanto, según otro aspecto, se describe un compuesto de arsénico seleccionado entre As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 , para utilización en el tratamiento y o prevención por vía tópica de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.

10 En otras palabras, se describe la utilización de un compuesto de arsénico seleccionado entre As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 , para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención por vía tópica de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano, así como un método de prevención y/o tratamiento tópico de lesiones de la piel asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias que comprende administrar un compuesto de arsénico seleccionado entre As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 a un ser humano.

20 Se entiende en el sentido de la invención que se refiere a las mismas patologías que las citadas anteriormente, es decir las lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias seleccionadas entre el lupus eritematoso, esclerodermia, psoriasis, vasculitis cutánea, púrpura vascular, dermatosis vesiculares autoinmunitarias (en particular penfigoide vesicular, penfigoide cicatricial, dermatosis lineal por IgA, dermatitis herpetiforme, epidermolisis vesicular adquirida, pénfigo y sus variantes), las dermatitis (en particular dermatitis atópica, dermatitis seborreica, dermatitis por estasis) dermatomiositis, eritema nudoso, pioderma gangrenoso, eccema (especialmente el eccema atópico, eccema de contacto, eccema dishidrósico), liquen plano, liquen escleroatrófico y alopecia areata. Preferentemente, las lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias son las lesiones cutáneas asociadas al lupus.

25 La administración tópica de compuestos de arsénico se ve facilitada por la utilización de composiciones especialmente adaptadas a esta utilización. De hecho, es bien sabido que la formulación de una composición es determinante para garantizar la buena administración y la eficacia de un producto activo. Esto es particularmente cierto en el caso del arsénico que existe bajo una amplia variedad de compuestos con diferentes propiedades fisicoquímicas.

30 Según otro aspecto, se describe una composición tópica, en particular dermatológica que comprende al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 , en particular para utilización en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.

35 Se describen botiquines o equipos que comprenden al menos un recipiente que contiene al menos un compuesto de arsénico seleccionado entre As_2O_3 , As_2O_5 , As_4O_6 , As_2S_2 , As_2S_3 , As_2S_5 y As_4S_4 en una forma farmacéuticamente aceptable para su administración tópica y/o dermatológica. El botiquín asimismo puede comprender medios de aplicación adecuados, tales como una pipeta graduada y/o una espátula.

40 Los ratones MRL/lpr desarrollan espontáneamente lupus eritematoso disseminado, poliartritis reumatoide y síndrome de Sjögren caracterizados por lesiones dermatológicas, vasculares, renales, pulmonares, articulares y oculares debidas a infiltrados de células linfoides. Al igual que en la especie humana, se observa en los ratones MRL/lpr un fuerte dimorfismo sexual, las hembras presentan una patología más precoz y más severa que los machos y mueren antes. La enfermedad comienza aproximadamente a las 8 semanas de edad y ocasiona la muerte de los ratones, en promedio, a las 18 semanas de edad para las hembras y a las 22 semanas para los machos, siendo el promedio de vida de un ratón normal de 2 años.

45 Experimento 1: Demostración de la eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O para el tratamiento local de lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr, así como de su buena tolerancia a las dosis terapéuticas previstas.

50 **Objetivo:** Este experimento tiene por objeto evaluar la eficacia terapéutica y la tolerancia de un tratamiento tópico de las lesiones cutáneas graves de ratones autoinmunes MRL/lpr por trióxido de arsénico o As_2O_3 . También tiene como objetivo evaluar la posibilidad de ajustar la dosis en función de la gravedad de las lesiones hísticas. Por último, también tiene como objetivo evaluar la rapidez del tratamiento utilizando ratones considerados como "envejecidos" en vista de la duración limitada de la vida de los ratones MRL/lpr y, por lo tanto, susceptibles de morir antes de haber podido observar la eficacia del tratamiento.

55 **Métodos:** La solubilidad de los compuestos de arsénico depende principalmente del pH, la oxidorreducción y las condiciones de temperatura del excipiente. Como el compuesto de arsénico As_2O_3 es poco soluble en agua, primero se disuelve a una concentración alta (60 a 70 mg/ml) en una solución alcalina diluida (0,5 o 1 M), y calentando ligeramente hasta obtener una solución transparente e incolora. Esta solución se libera de partículas y es estéril por filtración en un filtro de 0,22 μM . La solución madre de As_2O_3 así obtenida se diluye a continuación en un amortiguador fosfato o de suero fisiológico estéril a una concentración que varía de 0,5 mg/ml para su uso *in vivo*. La

solución madre del compuesto de arsénico As_2O_3 se conserva de 1 a 3 meses en el frigorífico (4°C), mientras que la solución diluida no se conserva más que 5 días a 4°C y protegida de la luz.

Ratones MRL/lpr (10 hembras y 10 machos por grupo de 4 a 5 meses) con lesiones cutáneas graves de tipo lúpico, y para algunas vasculitis cutáneas necrotizantes, se trataron 3 o 5 veces por semana según el experimento (de lunes a viernes), durante 8 semanas, mediante la aplicación en las lesiones hísticas de una compresa (o de una brocha) impregnada de una solución de arsénico As_2O_3 a concentraciones de 0,5 mg/ml. Los animales de referencia eran ratones de la misma edad y sexo, tratados con el excipiente.

Resultados: Las fotos en las figuras 1 y 2 son características del tipo y extensión de las lesiones cutáneas observadas en un ratón hembra MRL/lpr (Figura 1) y un ratón macho MRL/lpr (Figura 2) al inicio del tratamiento (t0) y después de 2, 4 y 8 semanas de tratamiento tópico con compuesto de arsénico As_2O_3 a razón de 5 aplicaciones/semana.

Después de 2 semanas de tratamiento, las destrucciones de tejido se detuvieron o retrocedieron, en concreto por lo que respecta a la necrosis de orejas, característica de la vasculitis de vasos cutáneos (Figura 1). Después de 8 semanas de tratamiento, hay una desaparición casi completa de las lesiones cutáneas inflamatorias que incluso conducen a un rebrote de los pelos. No se observaron efectos indeseables (inmunosupresión no específica, toxicidad hística o muerte prematura) en animales tratados con el compuesto de arsénico As_2O_3 lo que indica una buena tolerancia a las dosis terapéuticas utilizadas. Además, la gran mayoría de animales vivieron casi 8 semanas después del inicio del tratamiento, lo que es considerable en comparación con la vida promedio de los ratones MRL/lpr. Por el contrario, una gran cantidad de animales de referencia murieron en el experimento y todos los animales supervivientes presentaban lesiones cutáneas graves después de 8 semanas de tratamiento con el excipiente.

Dado que la enfermedad puede manifestarse en formas más o menos graves, es necesario adaptar la dosis. En el experimento ilustrado en la figura 3, el número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_3 se redujo a 3 (lunes, miércoles, viernes) en ratones MRL/lpr cuya gravedad de las lesiones cutáneas fue menor que la de los animales que se muestran en las figuras 1 y 2. La evolución de las lesiones cutáneas durante este tratamiento se ha seguido como anteriormente durante 8 semanas. Como se muestra en las fotos de la figura 3, se observó una reducción significativa en las lesiones hísticas en ratones hembra MRL/lpr después de 8 semanas de tratamiento con 3 aplicaciones semanales del compuesto de arsénico As_2O_3 en lugar de 5 para las figuras 1 y 2. Por lo tanto, es bastante posible modular la dosis según la gravedad de las lesiones observadas al inicio del tratamiento.

Conclusiones: Este experimento demuestra que el compuesto de arsénico As_2O_3 presenta una gran eficacia terapéutica por vía tópica en el tratamiento de lesiones inflamatorias graves del tejido cutáneo, vasculitis cutánea necrotizante y alopecia. Además, permite una regeneración completa del tejido cutáneo objetivada por un rebrote casi completo de los pelos. El compuesto de arsénico As_2O_3 utilizado por vía tópica también demuestra una gran rapidez de acción, ya que después de 2 semanas de tratamiento, la destrucción del tejido cutáneo se había detenido o retrocedido. Para las formas menos graves de la enfermedad, el número de aplicaciones semanales puede disminuirse sin pérdida significativa de eficacia. Por otra parte, la mayoría de los animales tratados con el compuesto de arsénico As_2O_3 vivieron más de 8 semanas después del inicio del tratamiento sin presentar efectos indeseables significativos, lo que indica que la tolerancia del compuesto de arsénico As_2O_3 es buena a las dosis terapéuticas utilizadas y que este tratamiento tópico tiene una influencia favorable importante en la longevidad de los ratones MRL/lpr. De hecho, al final de este experimento, los animales tratados con el compuesto de arsénico As_2O_3 tenían entre 24 y 28 semanas de edad, mientras que generalmente mueren entre 18 y 22 semanas de edad.

Experimento 2: Margen terapéutico y reducción progresiva del número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_3

Objetivo: Este experimento tiene como objetivo evaluar la posibilidad de una disminución progresiva en el número de aplicaciones por semana del compuesto de arsénico As_2O_3 sin alterar la eficacia del tratamiento tópico. Este espaciado de dosis es necesario cuando se han usado dosis altas durante los tratamientos de ataque o cuando se producen efectos indeseables en un paciente durante un tratamiento a largo plazo.

Métodos: Las lesiones cutáneas graves y las vasculitis cutáneas necrotizantes presentes antes del tratamiento (tiempo t0 de las figuras 3, 4 y 5) en 15 ratones MRL/lpr de 4 meses de edad se trataron mediante la aplicación de una compresa (o con una brocha) impregnada con una solución de compuesto de arsénico As_2O_3 a una concentración de 0,5 mg/ml. El número de aplicaciones por semana varió de 2 a 5 según la experiencia. Incluso, la duración total del tratamiento tópico varió de 7 a 32 semanas.

Resultados: 5 aplicaciones semanales (de lunes a viernes) de compuesto de arsénico As_2O_3 a una concentración de 0,5 mg/ml detienen la evolución de las lesiones hísticas en 2 a 4 semanas, según el grado de gravedad de las lesiones presentes en el tiempo t0. Se han evaluado las consecuencias de una reducción del número semanal de aplicaciones de compuesto de arsénico As_2O_3 . En el ejemplo que se muestra en la figura 4, el número de aplicaciones tópicas se ha reducido a 2 por semana (lunes y jueves) y esto durante 5 semanas. La figura 4 demuestra que no solo esta reducción no condujo a una reanudación de la destrucción del tejido, sino que las afecciones cutáneas disminuyeron considerablemente después de 7 semanas de tratamiento tópico.

Los resultados presentados en la figura 5 son otro ejemplo que demuestra que es posible modular, durante el tratamiento, el número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_3 . Por lo tanto, un ratón MRL/lpr hembra fue tratado en primer lugar durante 4 semanas con 5 aplicaciones semanales (de lunes a viernes). Después de detener la evolución de las lesiones hísticas, el número de aplicaciones semanales se redujo a 3 (lunes, miércoles, viernes). No se observó recaída o rebote de la enfermedad después de 6 nuevas semanas de tratamiento con esta dosis reducida, el número de aplicaciones semanales se redujo aún más hasta 2 (lunes y jueves) y esto durante otras 22 semanas. Durante las 32 semanas que ha durado el tratamiento, se han introducido períodos sin tratamiento de aproximadamente 10 días. Es importante recordar que los ratones MRL/lpr mueren entre los 4 y 5 meses de edad. Sin embargo, el ratón MRL/lpr presentado en la figura 5, de 3 meses de edad al comienzo del tratamiento (t_0), ha vivido hasta la edad de 1 año, en cuya fecha se le ha practicado la eutanasia.

Conclusión: Una vez que se obtiene una interrupción de la evolución de las lesiones hísticas con un tratamiento de ataque basado en 5 aplicaciones por semana de compuesto de arsénico As_2O_3 , se puede considerar un espaciamiento de la dosis reduciendo el número semanal de aplicaciones a 3 o incluso 2 y esto durante varias semanas sin alterar la eficacia del tratamiento por vía tópica. La ausencia de recaída o rebote de la enfermedad después de la reducción de la dosis demuestra la alta eficacia del As_2O_3 tópico, así como su margen terapéutico ampliado. Por otra parte, este experimento demuestra como el experimento precedente que un tratamiento tópico el compuesto de arsénico As_2O_3 tiene una influencia positiva en la longevidad de los ratones MRL/lpr.

Experimento 3: Demostración de la eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 para el tratamiento local de lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr, así como su buena tolerancia a las dosis previstas.

Objetivo: La gran diversidad etiológica de las enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias hace necesario desarrollar un arsenal terapéutico más variado, en particular, gracias a las moléculas que actúan a través de diferentes mecanismos. En el caso de los medicamentos a base de compuestos de arsénico, se ha evaluado la eficacia terapéutica del pentóxido de arsénico (As_2O_5) debido a su solubilidad en agua, y por lo tanto a su modo de preparación, así como a sus mecanismos de acción son diferentes a los del trióxido de arsénico, As_2O_3 . Además, la toxicidad del compuesto de arsénico As_2O_5 es menor que la del compuesto As_2O_3 (aproximadamente 60 veces menor), permitiendo así reducir los efectos indeseables mientras conserva el beneficio terapéutico o incluso aumenta la dosis administrada, si es necesario. Por lo tanto, el experimento 3 tiene como objetivo evaluar la eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 para el tratamiento tópico de lesiones cutáneas graves de ratones MRL/lpr autoinmunes, así como su falta de toxicidad. También tiene como objetivo evaluar la rapidez del tratamiento utilizando ratones dañados con lesiones hísticas graves al principio del tratamiento y, por lo tanto, es probable que mueran rápidamente durante el experimento.

Métodos: El compuesto de arsénico As_2O_5 se disuelve primero a una concentración alta (10 a 15 mg/ml) en agua destilada hasta obtener una solución transparente e incolora. La solución se vuelve estéril y exenta de partículas por filtración en un filtro de 0,22 μM . La solución madre de As_2O_5 así obtenida se diluye luego en un amortiguador fosfato o suero fisiológico estéril para obtener una concentración comprendida entre 0,5 mg/ml para su uso in vivo. La solución original del compuesto de arsénico As_2O_5 se conserva durante 1 a 3 meses en el frigorífico (4°C), mientras que la solución diluida no se conserva más que 5 días a 4°C y protegida de la luz.

Ratones MRL/lpr (12 hembras y 12 machos de 4 a 5 meses) con lesiones cutáneas graves de tipo lúpico, y también vasculitis cutánea necrotizante para algunas (tiempo t_0 de la figura 6), se trataron 5 veces por semana (de lunes a viernes), durante 8 semanas, por la aplicación al nivel de las lesiones hísticas de una compresa (o de una brocha) impregnada con una solución de arsénico As_2O_5 a concentraciones de 0,5 mg/ml. Los animales de referencia eran ratones de la misma edad y sexo tratados con el excipiente.

Resultados: La figura 6 es un ejemplo que ilustra la muy alta eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 , así como su rapidez de acción. De hecho, las fotos presentadas en la figura 6 muestran que las destrucciones cutáneas habían cesado desde la primera semana de tratamiento (a una tasa de 5 aplicaciones por semana) y que casi habían desaparecido después de 4 semanas de tratamiento. Por el contrario, los animales de referencia tratados con el excipiente todavía tenían lesiones cutáneas graves.

Conclusiones: Este experimento demuestra que el compuesto de arsénico As_2O_5 es terapéuticamente eficaz por vía tópica en el tratamiento de lesiones inflamatorias graves de tejido cutáneo, la vasculitis cutánea necrotizante y la alopecia. También provoca una regeneración del tejido cutáneo dañado, como lo demuestra el rebrote casi completo de los pelos. También demuestra una gran rapidez de acción, ya que en menos de 2 semanas de tratamiento, las destrucciones del tejido cutáneo habían cesado o retrocedido. Por último, no se observaron efectos indeseables, de tipo inmunosupresión no específica, toxicidad hística o muerte prematura, en los animales tratados con As_2O_5 lo que indica su buena tolerancia a las dosis terapéuticas utilizadas.

Experimento 4: Margen terapéutico y reducción progresiva del número semanal de aplicaciones tópicas del compuesto de arsénico As_2O_5

Objetivo: este experimento tiene como objetivo evaluar la posibilidad de una disminución gradual en el número semanal de aplicaciones del compuesto de arsénico As_2O_5 sin alterar la eficacia del tratamiento tópico. Este espaciamiento de las dosis es necesario después de un tratamiento de ataque a dosis altas o en caso de que ocurran efectos indeseables relacionados con el tratamiento a largo plazo.

Métodos: Se han tratado las lesiones cutáneas graves así como las vasculitis cutáneas necrotizantes que presentan en el momento t0 10 ratones MRL/lpr de 4 a 5 meses de edad mediante la aplicación de una compresa (o una brocha) impregnada con una solución de compuesto de arsénico As_2O_5 a una concentración de 0,5 mg/ml. El número de aplicaciones semanales se redujo gradualmente de 5 a 1 durante las 10 semanas de tratamiento.

- 5 Resultados: Los animales fueron tratados al principio con 5 aplicaciones semanales de As_2O_5 (de lunes a viernes). Como se muestra en la figura 7, las lesiones inflamatorias específicas del tejido cutáneo, así como las de vasculitis que cesaron después de 2 semanas de tratamiento, se han reducido a 2 (lunes y jueves) el número de aplicaciones por semana. Como las lesiones cutáneas casi habían desaparecido después de 2 semanas de tratamiento con esta dosis reducida, se decidió reducirla aún más y reducir a 1 el número de aplicaciones semanales (lunes) hasta la eutanasia de los animales. Durante las 5 semanas de tratamiento con una sola aplicación semanal no se observó recaída ni rebote de la enfermedad.

- 15 Conclusión: Este experimento confirma la gran eficacia terapéutica y la rapidez de acción del compuesto de arsénico As_2O_5 en las lesiones inflamatorias graves del tejido cutáneo. De hecho, la detención de la evolución de las lesiones hísticas se obtiene generalmente en menos de 2 semanas con el tratamiento de ataque basado en 5 aplicaciones a la semana. Por consiguiente, se puede aplicar rápidamente una separación de las dosis. Por lo tanto, ha sido posible reducir el número de aplicaciones semanales de 5 a 1 sin alterar la eficacia del tratamiento por vía tópica. La ausencia de recaída o rebote de la enfermedad después de esta importante reducción de la dosis demuestra la gran eficacia del As_2O_5 tópico así como su amplio margen terapéutico. Por otra parte, a pesar de la reducción importante en la dosis, la mayoría de los animales tratados con el compuesto de arsénico As_2O_5 vivieron más de 8 semanas después del inicio del tratamiento, lo que indica que este tratamiento tópico tiene una influencia favorable evidente en la longevidad de los ratones MRL/lpr.

Experimento 5: Demostración de la eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 para el tratamiento por vía generalizada de lesiones cutáneas del ratón MRL/lpr así como de su buena tolerancia a las dosis previstas.

- 25 Objetivo: El experimento 5 tiene como objetivo evaluar la eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 administrado por vía generalizada para el tratamiento de lesiones cutáneas graves de ratones autoinmunes MRL/lpr, así como su falta de toxicidad.

- 30 Métodos: Se trataron ratones MRL/lpr (6 hembras y 6 machos de 4 a 5 meses de edad) que presentan lesiones cutáneas graves de tipo lúpico, y también vasculitis cutánea necrotizante (tiempo t0 de las figuras 8A y 8B) 5 veces a la semana (de lunes a viernes), durante 3 o 4 semanas, con inyecciones intraperitoneales de 0,1 ml por 10 g de ratón con una solución de arsénico As_2O_5 a una concentración de 0,5 mg/ml. Los animales de referencia eran ratones, de la misma edad y sexo, tratados con el excipiente.

- 35 Resultados: La figura 8 ilustra, en dos ratones MRL/lpr macho (parte A de la figura) y dos ratones MRL/lpr hembra (parte B), la gran eficacia terapéutica del compuesto de arsénico As_2O_5 así como su rapidez de acción. De hecho, las fotos presentadas en la figura 8 demuestran que la destrucción cutánea, según la gravedad de las lesiones iniciales, se redujo en gran medida o casi desapareció después de 3 o 4 semanas de tratamiento. Por el contrario, los animales de referencia tratados con el excipiente presentaban siempre lesiones cutáneas graves.

- 40 Conclusiones: Este experimento demuestra que el compuesto de arsénico As_2O_5 presenta una gran eficacia terapéutica por vía generalizada en el tratamiento de lesiones inflamatorias graves del tejido cutáneo, de la vasculitis cutánea necrotizante y de la alopecia. También provoca una regeneración del tejido cutáneo dañado, como lo demuestra el rebrote casi completo de los pelos. También muestra una gran rapidez de acción ya que en 3 a 4 semanas de tratamiento, la destrucción del tejido cutáneo había cesado o incluso retrocedido. Por último, no se observaron efectos indeseables, de tipo inmunosupresión no específica, toxicidad hística o muerte prematura, en los animales tratados con As_2O_5 , lo que indica su buena tolerancia a las dosis terapéuticas utilizadas.

- 45 Experimento 6: Demostración de un efecto sinérgico potenciador entre el compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico As_2O_3 para el tratamiento o la prevención de los síndromes autoinmunitarios y linfoproliferativos del ratón MRL/lpr.

Objetivo: Este experimento tiene como objetivo evaluar la eficacia terapéutica de una asociación entre el compuesto arsénico As_2O_3 y el compuesto As_2O_5 para el tratamiento por vía tópica y/o general de lesiones hísticas autoinmunitarias e inflamatorias de ratones MRL/lpr.

- 50 Métodos: Los ratones MRL/lpr (machos y hembras) que presentan lesiones cutáneas graves de tipo lúpico así como vasculitis cutánea necrotizante se trataron 5 veces a la semana durante 8 semanas, mediante la administración de una solución acuosa que contenía ya sea el compuesto arsénico As_2O_3 o el compuesto As_2O_5 o una mezcla de los dos compuestos $\text{As}_2\text{O}_3 + \text{As}_2\text{O}_5$ o un amortiguador fosfato (PBS) como referencia negativa. Se utilizaron deliberadamente dosis poco eficaces (subóptimas) de As_2O_3 o de As_2O_5 . Los compuestos de arsénico se administraron en forma acuosa por medio de compresas o de una brocha para tratamiento local o por inyección intraperitoneal para tratamiento general.

Al final del tratamiento, se extrajo sangre de cada animal para cuantificar en el suero los índices de autoanticuerpos (anti-ADN, factor reumatoide) y de citocinas involucradas en la enfermedad. Se tomó piel del lomo de cada animal para el análisis histológico, así como para el análisis de la naturaleza del infiltrado inflamatorio después del

aislamiento de las células por métodos enzimáticos, sus recuentos al microscopio y sus análisis citométricos de flujo con la ayuda de anticuerpos fluorescentes específicos para leucocitos.

Resultados: Las figuras 9 y 10 demuestran que la eficacia terapéutica de un tratamiento local con una solución que contiene el compuesto As_2O_3 asociado al compuesto As_2O_5 ($\text{As}_2\text{O}_3 + \text{As}_2\text{O}_5$) es mucho mayor que la de una solución que contiene solo As_2O_3 o As_2O_5 y esto cualquiera que sea la vía de inyección: local (figura 9A) y general (figura 9B). Los 24 ratones MRL/lpr utilizados en este experimento presentaban al inicio del tratamiento (t_0) lesiones cutáneas graves y lesiones vasculares del tipo vasculitis cutánea responsable de la necrosis de las orejas y la cola. La piel del lomo de cada animal se aisló después de 8 semanas de tratamiento y las células del infiltrado inflamatorio se aislaron y cuantificaron.

Los gráficos presentados en las figuras 9A y 9B dan el número de células presentes en el infiltrado linfocítico en las lesiones cutáneas del lomo de los ratones después del tratamiento con un amortiguador fosfato (PBS), el compuesto As_2O_3 , el compuesto As_2O_5 o la combinación de $\text{As}_2\text{O}_3 + \text{As}_2\text{O}_5$ (3 ratones por grupo). Los ratones MRL/lpr se trataron deliberadamente con dosis poco eficaces (subóptimas) de As_2O_3 o As_2O_5 como lo demuestra el número aún alto de células en el infiltrado linfocítico al final del tratamiento (figura 9) y la presencia de lesiones cutáneas graves (figura 10). En cambio, cuando los dos compuestos de arsénico se combinan, y en las mismas dosis que cuando se administran por separado, se observa una eliminación casi completa del infiltrado inflamatorio (figura 9), con una mejor eficacia para el tratamiento tópico, así como una desaparición casi completa de las lesiones inflamatorias del tejido, como lo demuestra el rebrote de los pelos (figura 10), lo que demuestra una sinergia de estos dos compuestos de arsénico para la eliminación del infiltrado linfocítico.

REIVINDICACIONES

1. Composición que comprende una combinación de compuestos de arsénico, caracterizada porque comprende entre el 0,01% y el 0,15% del compuesto de arsénico As_2O_5 en relación con el peso total de la composición, y entre el 0,05% y 5% del compuesto de arsénico As_2O_3 en relación con el peso total de la composición.
- 5 2. Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque dicha combinación consiste en el compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico adicional As_2O_3 .
3. Composición según la reivindicación 1 o 2 para su utilización en el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.
- 10 4. Composición que comprende el compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico As_2O_3 para su utilización en el tratamiento y/o prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias en un ser humano.
- 5 6. Composición según una de las reivindicaciones 1 a 2 o composición para su utilización según las reivindicaciones 3 a 4, caracterizada porque está formulada en una forma adecuada para una administración tópica, en particular dermatológica.
- 15 7. Productos caracterizados porque contienen un compuesto de arsénico As_2O_5 y el compuesto de arsénico adicional como As_2O_3 como producto de combinación para una utilización simultánea, por separado o escalonada en el tiempo en el tratamiento y/o la prevención de lesiones cutáneas asociadas a enfermedades autoinmunitarias y/o inflamatorias en un ser humano.
- 20 8. Composición para su utilización según una cualquiera de las reivindicaciones 3, 4, 5, 6 o productos para la utilización según la reivindicación 7, en la que la aplicación de As_2O_5 se alterna con la administración del compuesto de arsénico As_2O_3 .

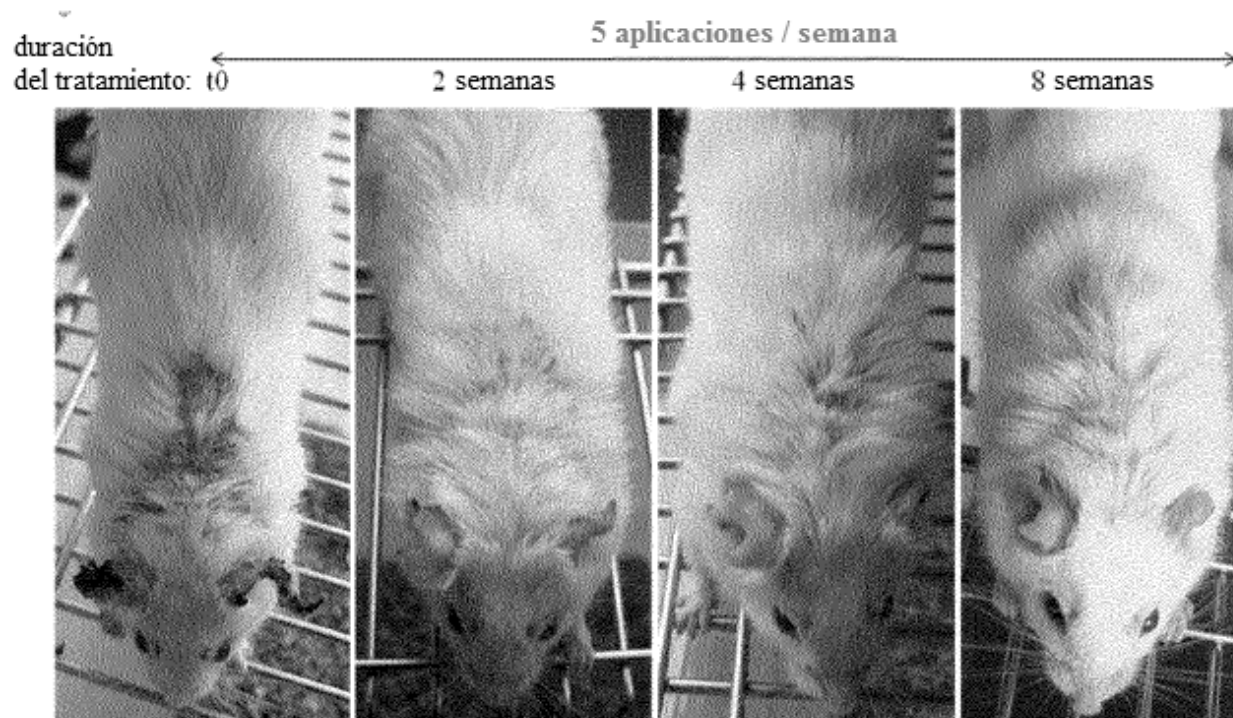


Figura 1

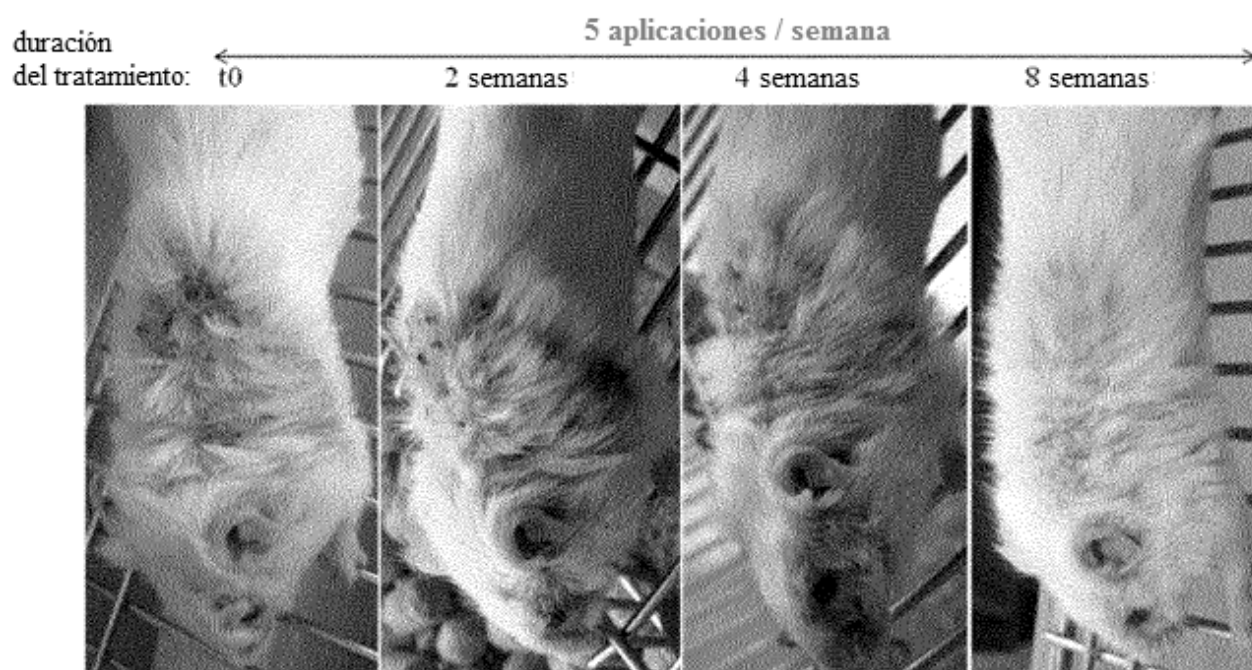


Figura 2

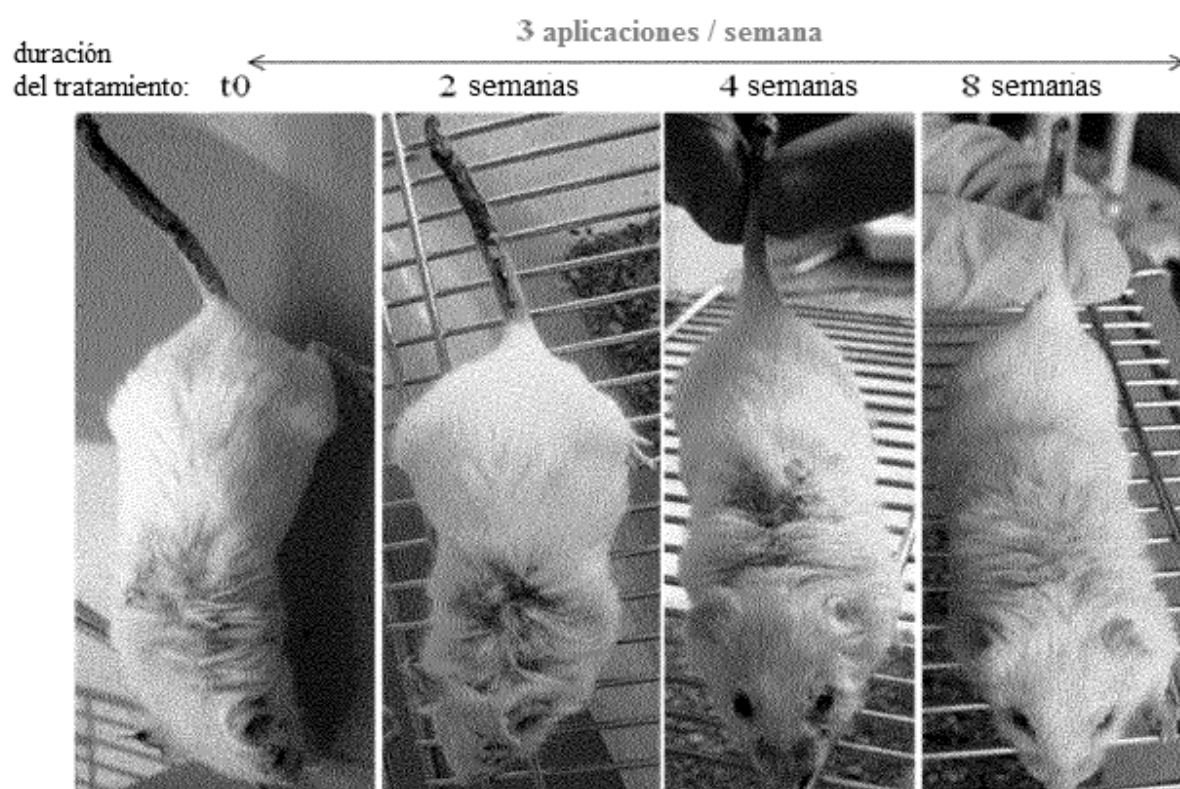


Figura 3

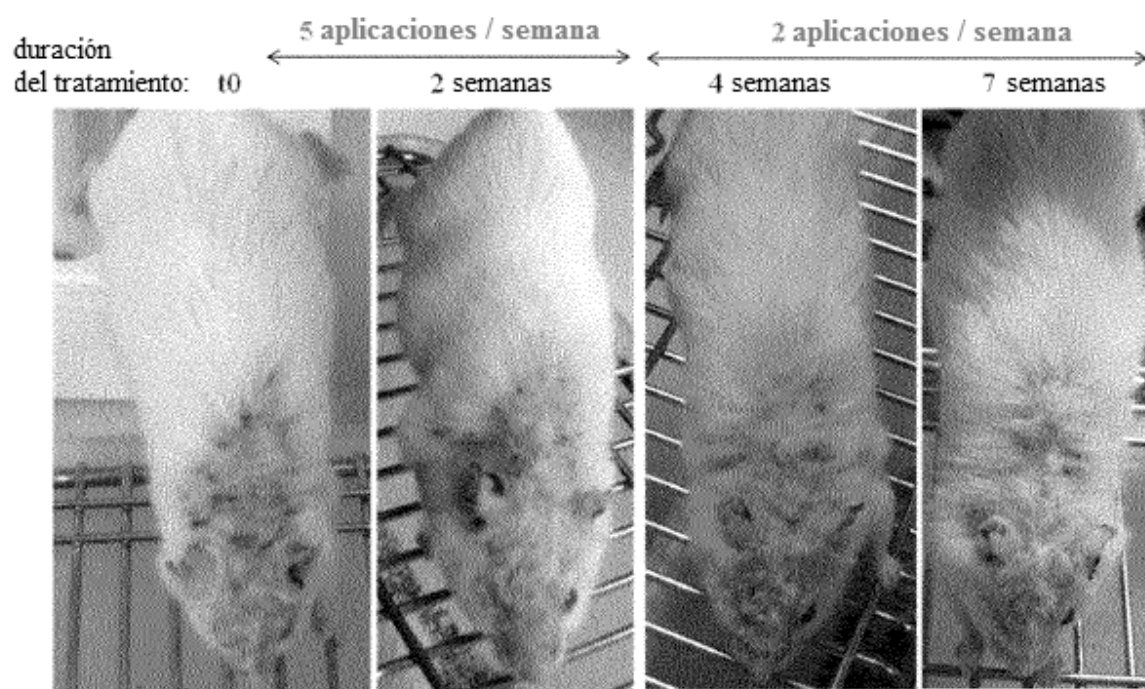


Figura 4

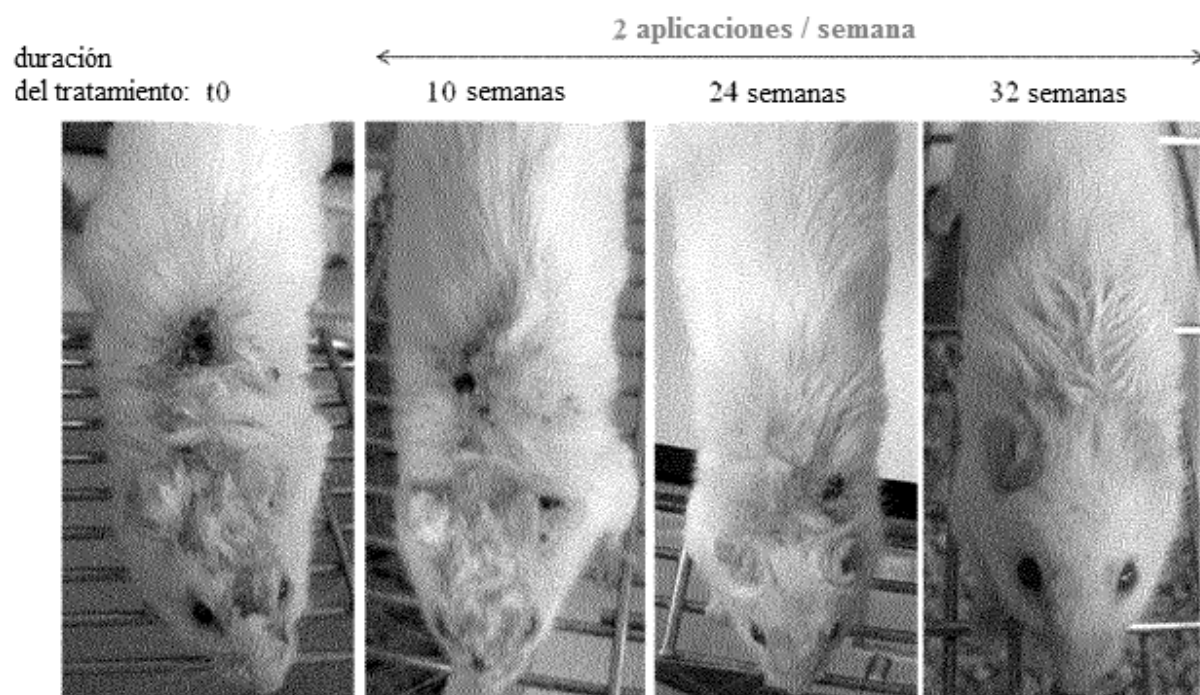


Figura 5

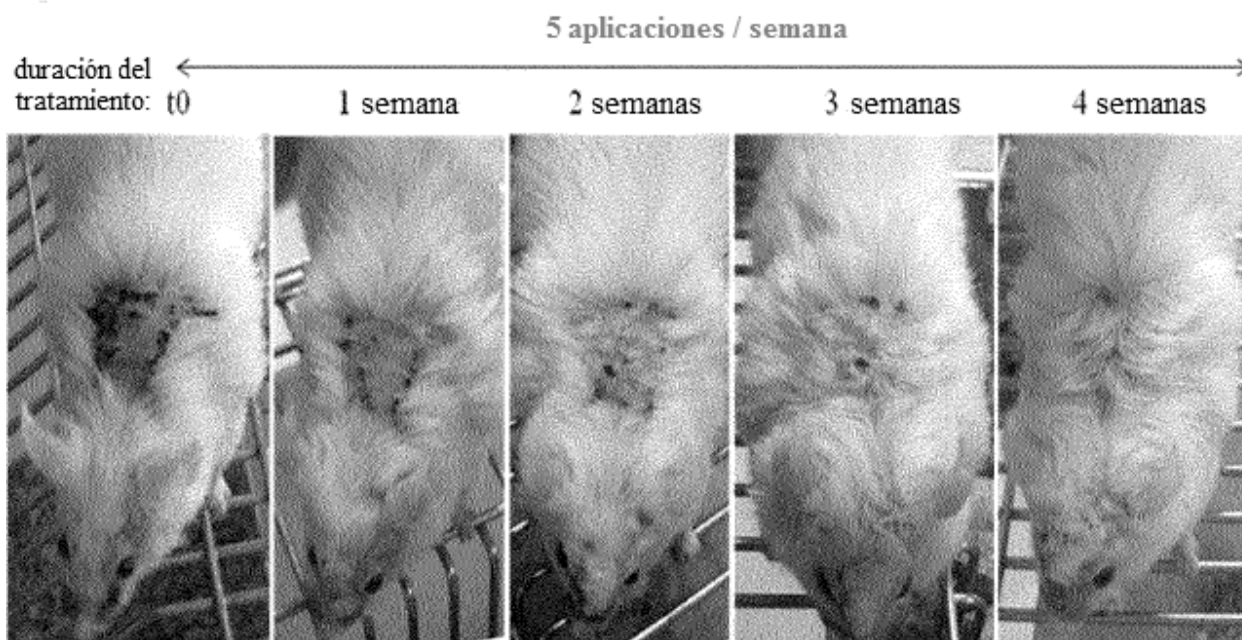


Figura 6

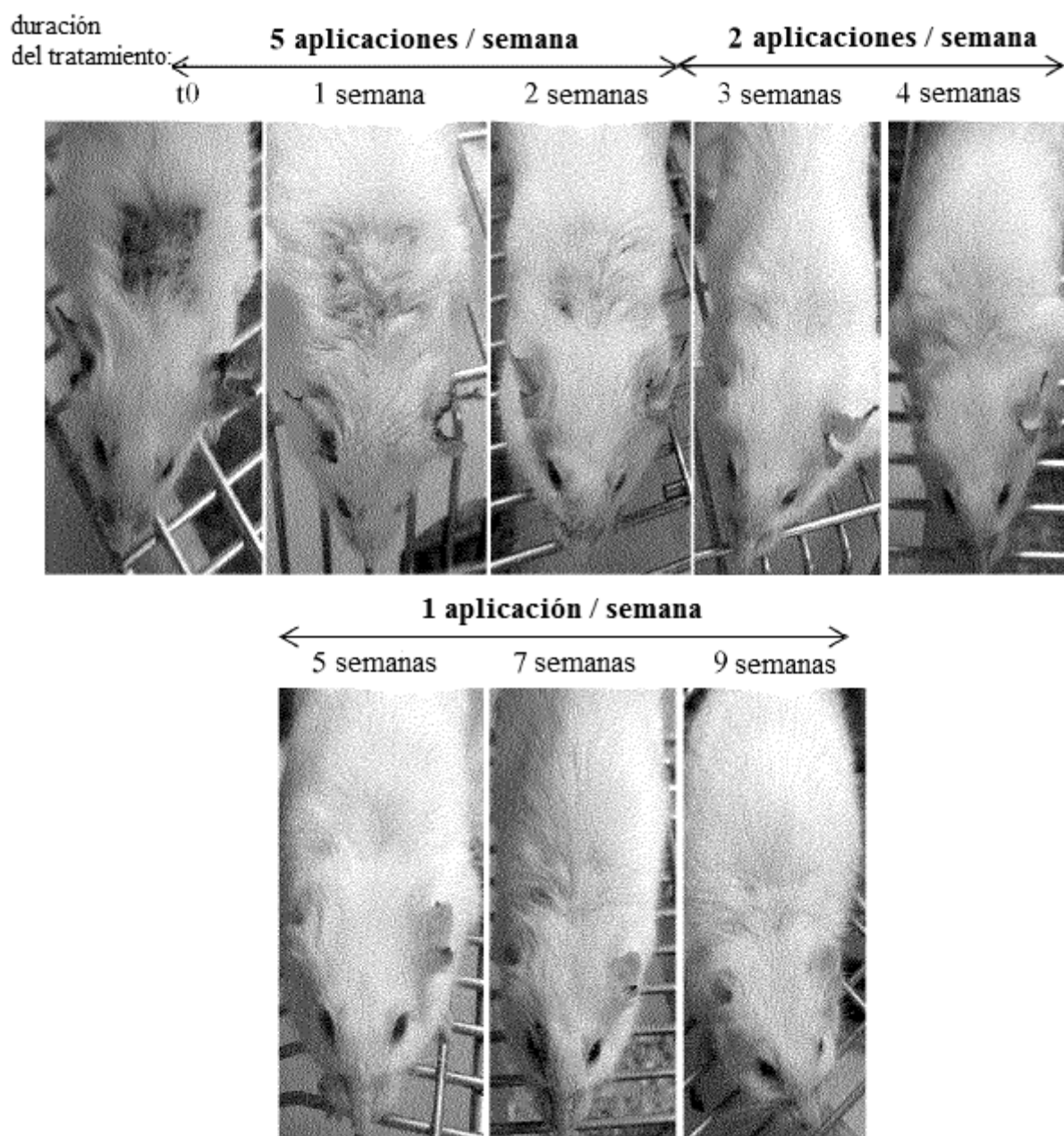


Figura 7

Figura 8A

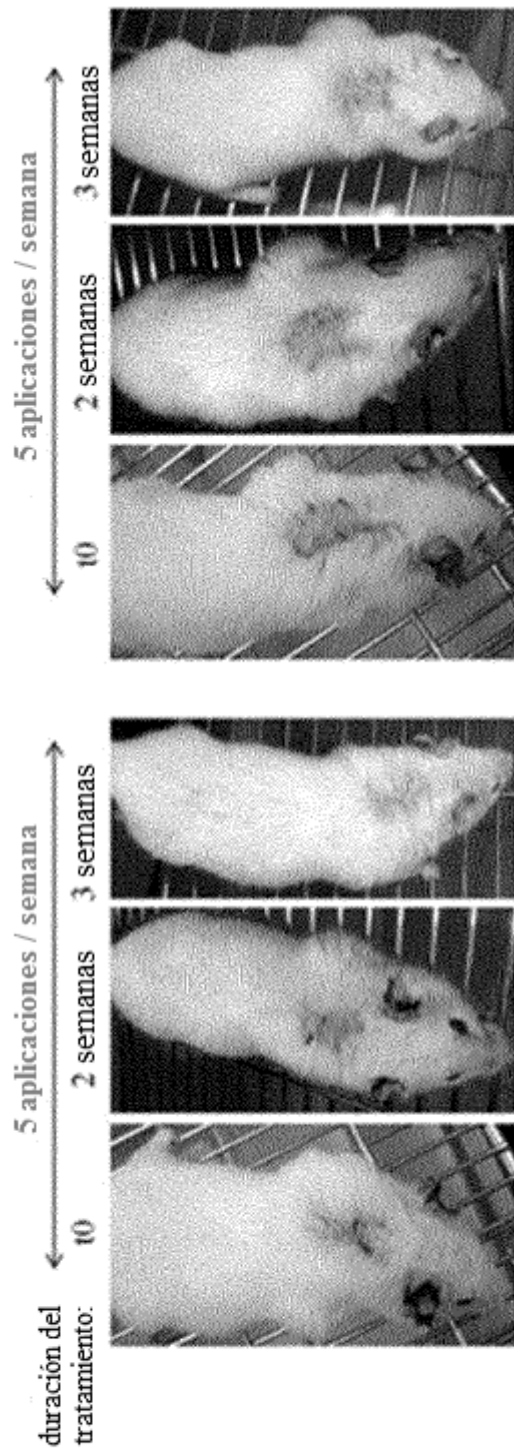


Figura 8B

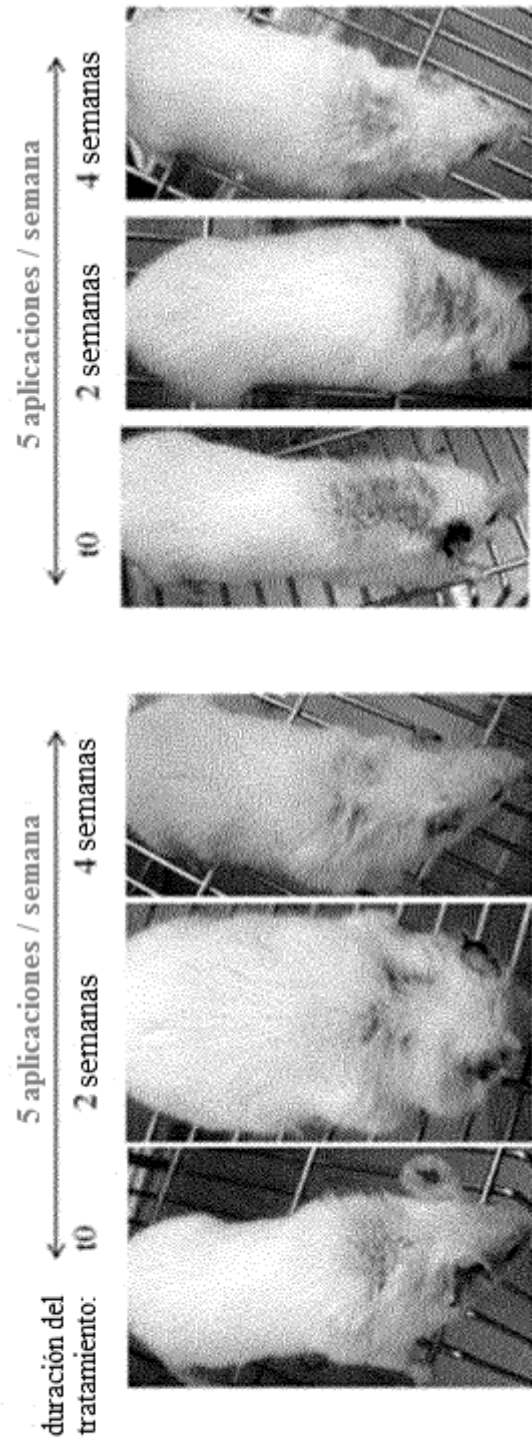
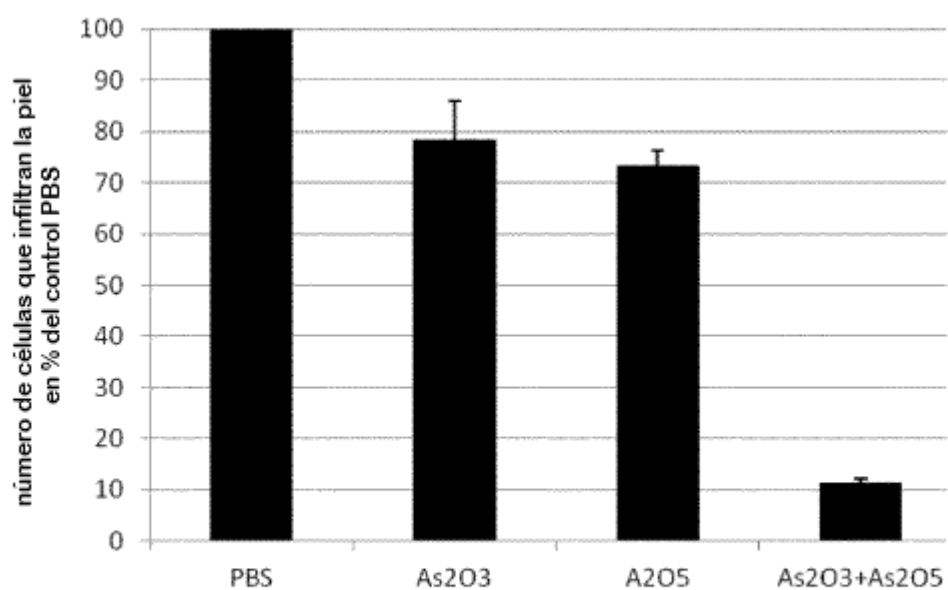


Figura 8

A) Tratamiento tópico



B) Tratamiento generalizado

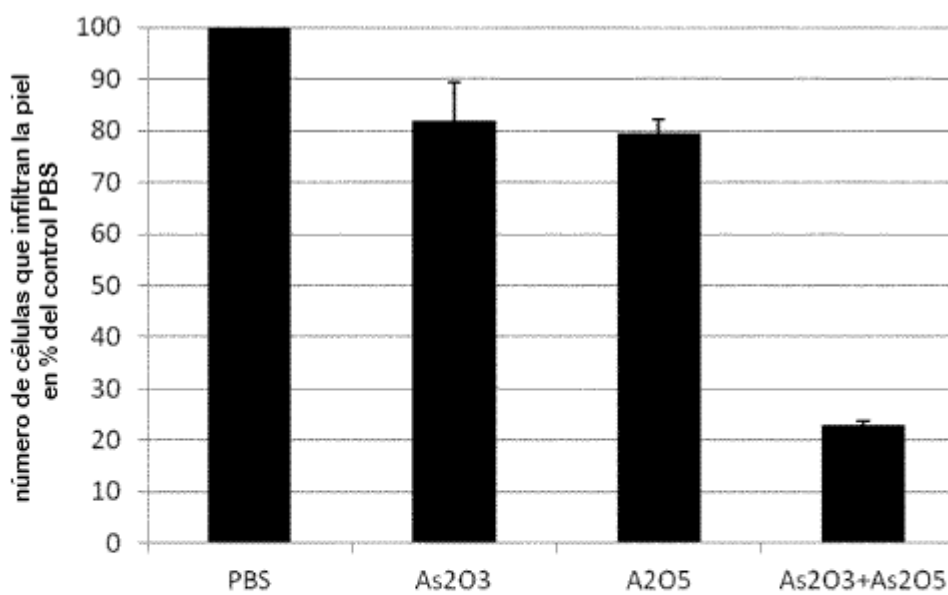


Figura 9

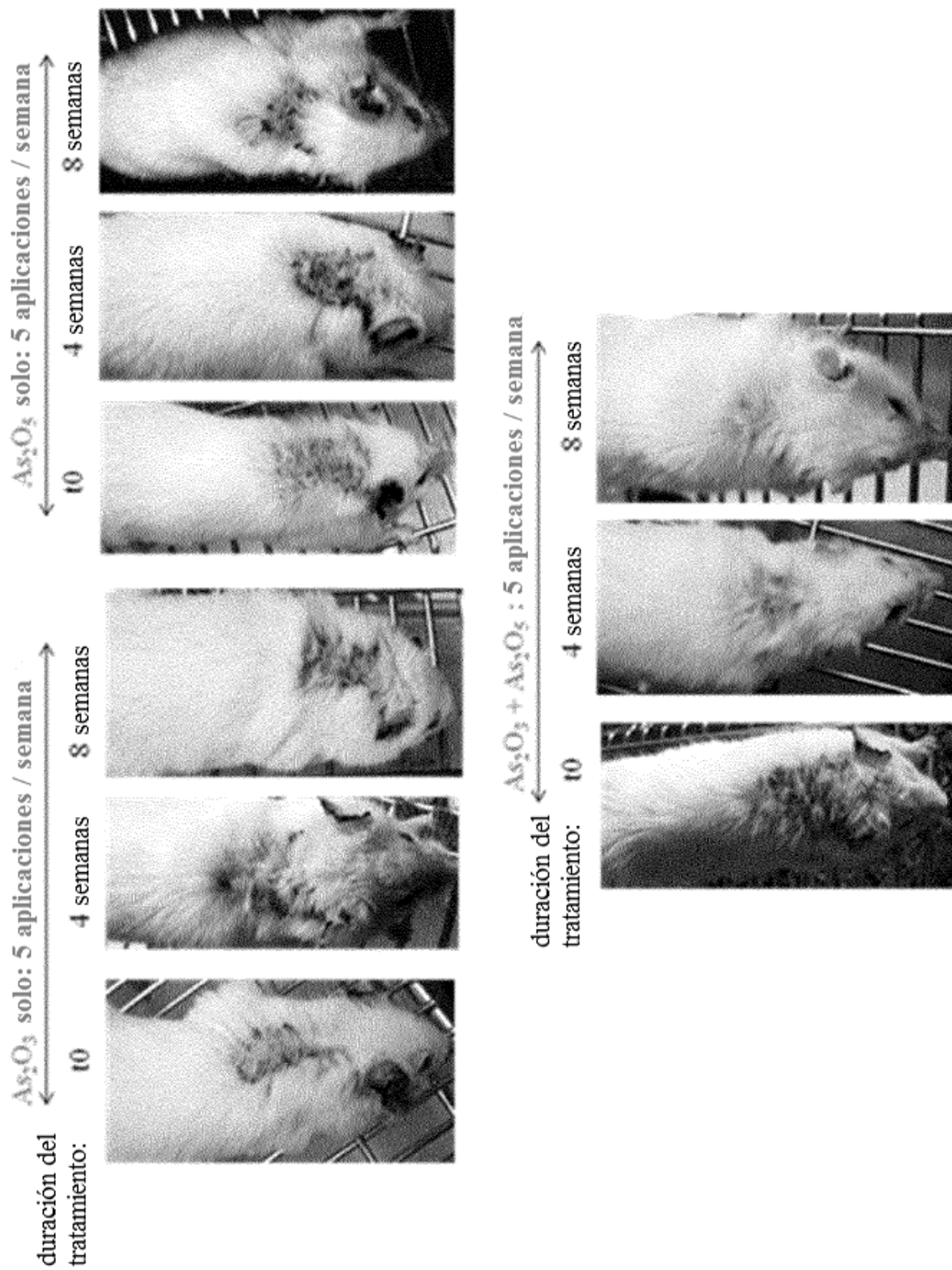


Figura 10