



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO  
DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE  
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

DOMANDA NUMERO	102007901576479
Data Deposito	23/11/2007
Data Pubblicazione	23/05/2009

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

"COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE A BASE DI ANTAGONISTI DELLA BRADICHININA ED ACIDO IALURONICO E LORO USO".

8110 M Descrizione del brevetto per invenzione industriale avente per titolo:

**PB/mc “COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE A BASE DI ANTAGONISTI  
DELLA BRADICHININA ED ACIDO IALURONICO E LORO USO”**

a nome : **ISTITUTO LUSO FARMACO D'ITALIA S.p.A.**

con sede in: Peschiera Borromeo (Milano)

\* \* \*

### **CAMPO DELL'INVENZIONE**

Sono descritte composizioni farmaceutiche contenenti come principi attivi una miscela di un polimero dell'acido ialuronico con un antagonista del recettore B1 o B2 della bradichinina. Tali composizioni si sono rivelate efficaci soprattutto nel trattamento delle patologie degenerative articolari quali l'osteoartrite mediante uso di iniezioni intraarticolari.

### **STATO DELL'ARTE**

L'osteoartrite (OA), nota anche come osteoartrosi o artrite degenerativa, è una malattia dolorosa, progressiva e degenerativa delle articolazioni. Le principali caratteristiche patofisiologiche della OA sono la distruzione e la perdita della cartilagine articolare, l'ipertrofia, l'infiammazione della membrana sinoviale e il conseguente rigonfiamento dell'articolazione. Questi effetti producono sintomi quali dolore, rigidità e perdita di funzionamento. L'elevata incidenza di OA nella popolazione anziana, associata all'aumento della vita media, indica che il numero di pazienti interessato da questa patologia, è destinato a crescere notevolmente nel prossimo futuro. La riduzione del dolore è considerata, da chi soffre di OA, molto importante per la qualità della vita.

Attualmente non sono disponibili farmaci che possano ostacolare la

progressione di questa patologia. I trattamenti sono dedicati principalmente a ridurre la sintomatologia dolorosa ed il recupero della funzione articolare. Paracetamolo e antiinfiammatori non steroidei (FANS) sono ampiamente prescritti per il trattamento del dolore nell'osteoartrite. Comunque l'uso prolungato di questi farmaci può essere accompagnato da importanti effetti indesiderati soprattutto a livello gastrointestinale (ulcere) e dell'aggregazione piastrinica. L'iniezione intrarticolare di corticosteroidi è in grado di ridurre l'infiammazione e il dolore associato, ma il loro effetto è di breve durata e pertanto vengono usati raramente. Per queste ragioni è evidente che esiste la necessità di nuovi agenti terapeutici in grado di ridurre il dolore e l'infiammazione associati all'osteoartrite.

La bradichinina (BK) fa parte delle chinine, una famiglia di piccoli peptidi (8-11 aminoacidi) che derivano da precursori ad alto peso molecolare (chininogeni) conseguentemente all'attacco di enzimi ad attività peptidasica (callicreine). La formazione di chinine viene attivata in circostanze diverse in cui siano coinvolti processi infiammatori, ischemici, immunitari o infezioni batteriche o virali.

Due sono i recettori delle chinine caratterizzati da un punto di vista farmacologico: il recettore B1, solo minimamente espresso in condizioni normali, ma la cui espressione viene indotta successivamente agli stimoli sopra elencati; il recettore B2, che è invece espresso costitutivamente da molti tipi cellulari. La bradichinina, attraverso la stimolazione del recettore B2, è uno dei più importanti mediatori dell'infiammazione e del dolore, ed è coinvolta nel rilascio di mediatori pro-infiammatori e iperalgesici.

È stato evidenziato che la bradichinina (BK) partecipa a diversi livelli

alla patofisiologia della OA.

Da tempo è noto che, nei pazienti affetti da OA, le chinine vengono rilasciate nel liquido sinoviale. Inoltre in questi pazienti il recettore B2 è stato rilevato nelle cellule che rivestono la cavità sinoviale, nei fibroblasti e nelle cellule endoteliali dei vasi sanguigni.

Molti studi in diversi modelli preclinici indicano che la BK somministrata per via intra-articolare induce stravaso plasmatico e accumulo di neutrofili nella sinovia di ratto più efficacemente di altri mediatori dell'infiammazione quali la sostanza P, l'istamina, il calcitonin gene related peptide. Inoltre la BK riduce il contenuto di proteoglicani nella cartilagine articolare e provoca il rilascio di prostaglandine in modelli murini di OA.

Alcuni antagonisti del recettore B2 della bradichinina si sono dimostrati efficaci nel blocco di eventi infiammatori e della iperalgesia in diversi modelli animali di sinovite.

Dopo il rilascio la BK è capace di eccitare e sensibilizzare le fibre nervose sensorie che innervano la sinovia.

La rilevanza clinica della BK è stata dimostrata in uno studio di fase II su 58 pazienti con OA sintomatica del ginocchio, nei quali una singola somministrazione intra-articolare dell'antagonista del recettore B2 Icatibant (90 µg/1 ml) ha ridotto l'intensità del dolore al ginocchio in modo maggiore che il placebo (55 pazienti). Recentemente Sanofi-Aventis ha riportato che l'infiltrazione intra-articolare di Icatibant (3 iniezioni di 500 µg a distanza di una settimana una dall'altra) induce, nei pazienti con OA al ginocchio, una forte risposta analgesica che dura fino a 3 mesi dal trattamento, e questo notevole effetto analgesico viene ottenuto con effetti collaterali trascurabili o

nulli.

Sono stati descritti in letteratura molti antagonisti al recettore B1 o B2 della bradichinina:

Gobeil, F. Jr et al *Hypertension* 1999, 33 823-9 (composti R715, R892 e R914);

Gabra, B.H.; Sirois, P. *Peptides* 2003, 24,1131-9 (composto R954);

Steward, J. M. et al *Immunopharmacology*, 1996, 33, 51-60 (composti B9858, B9958);

Hess, J.F. et al *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004, 310, 488-97;

Gougam, J et al. *J. Pharmacol Exp. Ther.* 2004, 309, 661-9;

Ritchie, T.J. et al. *J. Med. Chem.* 2004, 47,4642-4;

Wood, M.R. et al, *J. Med. Chem.* 2006, 49, 1231-4;

Porreca, F. et al. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2006;

Kuduk, S.D. et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 2791-2795;

Fotsch, C. et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 2071-5;

Steward, J.M. et al *Immunopharmacology*, 1999, 43, 155-61 (composti B10056, B9430);

Pruneau, D et al. *Br. J. Pharmacol* 1998, 125, 365-72 (composti FR167344, FR173657, LF160687, Bradizide, LF160335);

*Medicinal Chemistry-28<sup>th</sup> Natl Symposium (Part II) Overnight Report;*  
Iddb meeting Report: San Diego, 2002.

In EP370453 sono stati descritti alcuni composti a struttura peptidica aventi azione come antagonisti della bradichinina; fra questi composti si descrive anche il composto definito come icatibant. L'icatibant è stato anche oggetto del brevetto EP1594520 in cui ne veniva vantato l'uso nella profilassi

e terapia dell'osteoartrosi.

In WO03103671 è stato descritto un gruppo di antagonisti non peptidici della bradichinina molto potenti. Una selezione di antagonisti particolarmente potenti viene riportata in WO2006040004, fra i quali il composto MEN16132; anche questi antagonisti sono risultati molto efficaci nella profilassi e nella terapia dell'osteoartrite, in particolare nei trattamenti per via intraarticolare del ginocchio.

Lo ialuronano (noto anche come acido ialuronico o ialuronato) è un glicosaminoglicano non solfatato ampiamente distribuito nei tessuti endoteliale, connettivo, epiteliale e neurale. Esso è uno dei maggiori componenti della matrice extracellulare e contribuisce significativamente alla proliferazione cellulare e alla migrazione. In media un uomo di 70 kg ha nel corpo 15 g di ialuronano, un terzo del quale viene ricambiato (degradato e sintetizzato) ogni giorno.

Lo ialuronano è uno dei maggiori componenti del liquido sinoviale, di cui aumenta la viscosità. Insieme alla lubricina, è uno dei principali lubrificanti dei componenti fluidi. Lo ialuronano è anche un componente importante della cartilagine articolare, ove si trova come rivestimento di ogni cellula (condrociti).

Lo ialuronano viene da tempo usato per il trattamento della OA del ginocchio (Puhl W; Scharf P (1997). *Ann Rheum Dis* **56** (7): 637-40). Tale trattamento, detto *viscosupplementazione*, consiste in una serie di iniezioni nell'articolazione del ginocchio che dovrebbero aumentare la viscosità dei fluidi ivi presenti, lubrificando e supportando l'articolazione stessa e producendo quindi un effetto analgesico. È stato anche proposto che lo

ialuronano abbia un effetto biochimico positivo sulle cellule della cartilagine. Il primo prodotto di questo tipo lanciato sul mercato è stato Hylan G-F 20 (Synvisc®), commercializzato da Genzyme dal 1998. Nel 2002 la European Medicines Agency (EMEA) ha esteso l'approvazione di Hylan GF-20 come trattamento per il dolore da OA nell'anca, e nel 2007 nella caviglia e nella spalla. Altri prodotti presenti sul mercato sono ad esempio Ostenil® (TRB CHEMIDICA), Suplasyn® (MERCKLE RECORDATI), GO-ON® (ROTTAPHARM).

Una meta-analisi di 18 studi clinici randomizzati ha confermato il beneficio clinico di Hylan G-F 20 e di questa classe di viscosupplementi, concludendo che i viscosupplementi sono superiori al placebo e che molti di essi hanno efficacia maggiore degli steroidi nel trattamento del dolore associato con la OA nel ginocchio. (Positive Synvisc Data Published by Cochrane Collaboration Source, Press Release 2005, May 05, Genzyme Corp).

Strutturalmente lo ialuronano è un polimero costituito da unità ripetitive disaccaridiche di N-acetilglucosammina e glucuronato di sodio. Quello utilizzato nel trattamento della OA viene generalmente estratto dalla cresta di gallo e ne possono essere isolate frazioni di vario peso molecolare medio, da 0,5 a 10 milioni di dalton. L'effetto come viscosupplemento varia a seconda del peso molecolare e della densità (Gomis et al, Arthritis & Rheumatism, 2004, 50:314-326).

Sono stati proposti numerosi metodi per il trattamento dell'osteoartrosi ivi compreso l'uso di antagonisti della BK o l'acido ialuronico.

In WO03063799 si è anche proposto l'uso di composizioni farmaceutiche contenenti una pluralità di agenti condroprotettivi fra i quali

sono citati anche gli inibitori delle metallo proteinasi (MMP) (la bradichinina inibisce la produzione di MMP), ma nessun accenno viene fatto all'uso di acido ialuronico.

Vi è tuttavia un bisogno non ancora soddisfatto di trattamenti efficaci delle patologie degenerative articolari quali l'osteoartrite.

### **DESCRIZIONE DETTAGLIATA**

Si è ora sorprendentemente scoperto che composizioni farmaceutiche contenenti, come principi attivi:

- a) acido ialuronico
  - b) un antagonista del recettore B1 o B2 della bradichinina
- mostrano una sorprendente efficacia nel trattamento di patologie degenerative articolari quali, ma non limitatamente, l'osteoartrite.

Fra gli antagonisti del recettore B1 della bradichinina, sono preferiti:

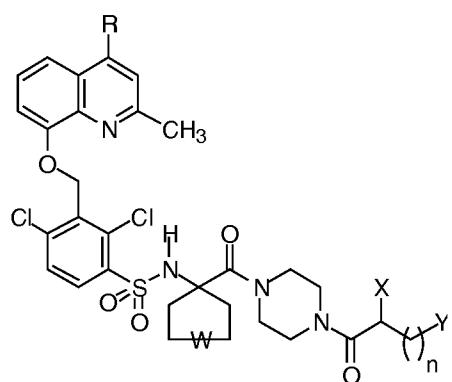
- Ac-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Nai-IleOH (R715),
- Ac-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH (R892),
- Ac-Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH (R914),
- Ac-Orn-Arg-Oic-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH (R954),
- H-Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-Igl-Oic-OH (B9858),
- H-Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Cpg-Ser-D-Tic-Cpg-OH (B9958),
- 2-[1-(3,4-Dicloro-benzensulfonil)-3-oxo-1,2,3,4-tetraidro-chinossalin-2-il]-N-[2-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)-fenil]-etil]-acetamide,
- N-[2-[4-(4,5-Diidro-1H-imidazol-2-il)-fenil]-etil]-2-[1-naftalin-2-sulfonil)-3-oxo-1,2,3,4-tetraidro-chinossalin-2-il]-acetamide,
- 3-(3,4-Dicloro-fenil)-N-[1-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)-benzil]-2-oxo-2-pirrolidin-1-il-etil]-3-(naftalen-2-sulfonil amino)propionamide,

- Acido 4'-(1-[3-[2,2-difluoro-ciclopropancarbonil]-amino]-4-metil-piridin-2-il-amino]-etil)-5-metil-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- N-(4-Cloro-2-[1-[3'-fluoro-2'-(3-metil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-bifenil-4-il]-etilamino]-piridin-3-il)-3,3,3-trifluoro propionamide,
- 3-Benzo[1,3]dioxol-5-il-N-[2-[4-(2,6-dimetil-piperidin-1-il-metil)-fenil]-1-(isopropil-metil-carbamoil)-etil]-3-(6-metossi-naftalin-2-sulfonil amino)-propionamide,
- [2-(2,2-Difenil-etilamino)-5-[4.-[4-isopropil-piperazin-1-carbonil]-piperidin-1-sulfonil-fenil)-morfolin-4-il-metanone,
- [2-(2,2-Difenil-etilamino)-5-[4.-[4-metil-piperazin-1-carbonil]-piperidin-1-sulfonil-fenil)-morfolin-4-il-metanone,
- Acido 4'-[[(1-[(pirimidin-5-carbonil)-amino]-ciclopropancarbonil)-amino]-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- Acido 4'-[[(1-[(5-trifluorometil-piridin-3-carbonil)-amino]-ciclopropancarbonil)-amino]-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- N-[4-(4,5-Diido-1H-imidazol-2-il)-benzil]-2-[2-[(4-metossi-2,6-dimetil-benzensulfonil)-metil-amino]-etossi]-N-metil-acetamide,
- Acido 3,3'-difluoro-4'-[5-(4-piridin-4-il-piperazin-1-carbonil)-piridin-2-il-amino]-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- N-[6-(tert-Butilamino-metil)-1,2,3,4-tetraido-naftalen-1-il]-2-[1-(3-trifluorometil-benzensulfonil)piperidin-2-il]-acetamide.

Fra gli antagonisti del recettore B2 della bradichinina, particolarmente preferiti sono:

- H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-F5F-Igl-Arg-OH (B10056),
- H-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-Igl-Oic-Arg-OH (B9430),

- H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH (Icatibant),
- 4-[2-[[3-(3-Bromo-2-metil-imidazo[1,2-a]piridin-8-il-oximetil)-2,4-dicloro-fenil]-metil-carbamoil]-metil]-carbamoil]-vinil]-N,N-dimetilbenzamide, (FR167344),
- 3-(6-Acetilamino-piridin-3-il)-N-([[2,4-dicloro-3-(2-metil-chinolin-8-il-oximetil)-fenil]-metil-carbamoil]-metil)-acrilamide, (FR173657 op. FK3657),
- Acido 1-[2,4-dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-il-oximetil)-benzensulfonil]-pirrolidin-2-carbossilico [3-(4-carbamidoil-benzoilamino)-propil]-amide, (LF16067, Anatibant),
- Bradizide,
- 4-(4-[1-[2,4-Dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-il-oximetil)-benzensulfonil]-pirrolidin-2-carbonil]-piperazin-1-carbonil)-benzamidina, (LF160335),
- 2-[5-(4-Ciano-benzoil)-1-metil-1H-pirrol-2-il]-N-[2,4-dicloro-3-(2-metil-chinolin-8-il-oximetil)-fenil]-N-metil-acetamide,  
oppure uno dei composti descritti in WO2006/04004, aventi formula generale (I)



(I)

in cui

R è idrogeno o metile

W rappresenta un legame semplice oppure un atomo di O

n= 3, 4

X è idrogeno oppure un gruppo amminico -NR1R2 in cui R1 ed R2 possono essere indipendentemente fra loro idrogeno o un gruppo scelto fra metile, etile, n-propile, isopropile,

Y è un gruppo ammonico quaternario -NR3R4R5 in cui R3, R4, R5 possono essere indipendentemente fra loro metile, etile, n-propile, isopropile, butile, isobutile, n-pentile;

loro sali farmacologicamente accettabili, enantiomeri e miscele enantiomeriche.

Fra i composti di formula generale (I), particolarmente preferito è il composto: (4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-iloximetil)-benzensulfonilamino]-tetraidro-piran-4-carbonil}-piperazin-1-il)-5-oxo-pentil]-trimetil-ammonio, in forma salificata con ioni formalmente derivanti da un acido scelto fra: cloridrico, acetico, solforico, trifluoroacetico, metansolfonico, succinico, edetico; il cloruro bi-cloridrato è il composto definito MEN16132 (P.M. 871.5).

L'acido ialuronico impiegato presenta un peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di Dalton, preferibilmente fra 4 e 9 milioni di dalton; assolutamente preferito è l'acido ialuronico con P.M. medio fra 5 e 8 milioni di dalton.

Le composizioni secondo la presente invenzione contengono una quantità di antagonista della bradichinina per singola dose di una quantità compresa fra  $6 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-2}$  mMoli (nel caso di MEN16132 corrispondono

circa ad una quantità da 0,05 a 20 mg), preferibilmente fra  $1 \times 10^{-4}$  e  $1 \times 10^{-2}$  mMoli (nel caso di MEN16132 corrispondono circa ad una quantità da 0,1 a 10 mg) ed ancora più preferibilmente fra  $3 \times 10^{-4}$  e  $6 \times 10^{-3}$  mMoli (nel caso di MEN16132 corrispondono circa ad una quantità da 0,25 a 5 mg).

Inoltre tali composizioni contengono acido ialuronico, per singola dose, in quantità da 1 a 100 mg, preferibilmente da 5 a 20 mg.

Formulazioni farmaceutiche secondo la presente invenzione possono contenere anche uno o più veicoli/eccipienti farmaceuticamente accettabili.

Sono preferite forme farmaceutiche liquide e semisolide idonee alla somministrazione topica, quali soluzioni, creme, gel, o cerotti transdermici; in particolare forme adatte ad un uso per via iniettabile intra-articolare o intraborsale, quali le soluzioni, e transdermica quali le forme semisolide tipo creme o gel ed i cerotti transdermici. La forma farmaceutica può anche essere costituita da una forma in cui parte o tutti i componenti sono in una forma secca, eventualmente come liofilo, da ricostituire con una soluzione acquosa o altro veicolo adatto prima dell'uso.

Queste formulazioni possono essere prodotte mediante metodiche ben note nello stato dell'arte usando eccipienti noti nella tecnica, come leganti, disintegranti, riempitivi, stabilizzanti, diluenti, coloranti. Possono prevedere anche forme a rilascio ritardato o protratto mediante impiego di opportuni polimeri noti nella tecnica farmaceutica.

Nella preparazione di forme liquide adatte all'uso iniettabile, sono preferiti veicoli/eccipienti, farmaceuticamente accettabili, come solventi, conservanti quali antiossidanti e/o chelanti e antimicrobici, regolatori di isotonicità, sistemi tampone.

Come solventi è preferibile acqua eventualmente con cosolventi del tipo glicoli o polialcoli quali il glicol etilenico.

Possono essere eventualmente presenti conservanti o chelanti, fra i quali, preferiti sono il sodio edetato ed il sodio metabisolfito. e antimicrobici, fra i quali è preferito l'alcool benzilico.

Quali regolatori di isotonicità particolarmente preferiti sono il cloruro di sodio o il mannitololo.

Sistemi tampone preferiti possono essere il complesso di sali per il tampone fosfato e citrato, preferibilmente sotto forma di sali di sodio o potassio.

Nella presente invenzione, in particolare nella descrizione di composti a struttura peptidica, sono state usate le seguenti abbreviazioni per alcuni ammino acidi non naturali:

Nal = naftil-alanina;

NMePhe = N-metil-fenilalanina;

Oic = Acido octaidroindol-2-carbossilico;

Hyp = Idrossiprolina;

Igl = Acido aminoindancarbossilico;

Cpg = Acido 1-aminociclopentancarbossilico;

Tic = Acido 1,2,3,4-tetraidroisochinolin-3-carbossilico;

F5F = Pentafluorofenilalanina.

Tipici esempi di formulazione secondo quanto previsto dalla presente invenzione sono:

Acido ialuronico di peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton, 5-20 mg, MEN-16132 0,25 mg - 5, in soluzione fisiologica

(NaCl 0,9%), HC1 0,1 N q.b. fino a pH 4,5, acqua q.b a 1 ml.

Acido ialuronico di peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton 5-20 mg, MEN-16132 mg 0,25 - 5, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), HC1 0,1 N q.b. fino a pH 6, acqua q.b a 1 ml.

Acido ialuronico di peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton 5-20 mg, MEN-16132 0,25 - 5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), tampone fosfato (pH 6-8), acqua q.b a 1 ml.

Acido ialuronico di peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton 5-20 mg, MEN-16132 0,25 - 5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), tampone citrato (pH 6-8), acqua q.b a 1 ml.

Preparazione estemporanea ottenuta disciogliendo MEN-16132, 0,25-5 mg, sotto forma di liofilo, con una soluzione di acido ialuronico (peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton, 5-20 mg) con tampone fosfato in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), acqua q.b a 1 ml.

Acido ialuronico di peso molecolare medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton 5-20 mg, icatibant (P.M. 1304.5) 0,37 - 6,5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), tampone fosfato (pH 6-8), acqua q.b a 1 ml.

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione trovano impiego nella profilassi e terapia di patologie infiammatorie, autoimmunitarie, traumatiche e degenerative delle articolazioni quali in particolare: osteoartrite e osteoartrite post-traumatica, osteoartrosi (gonartrosi, spondilartrosi); spondilosi, sinovite, tenosinovite, borsite, contusioni, distorsioni, lussazioni e sublussazioni e nelle artropatie da alterazioni dello sviluppo quali osteocondrosi, displasie.

Il dosaggio può variare in funzione dell'età e delle condizioni generali del paziente, della natura e della gravità della patologia o disturbo e della via

e tipo di somministrazione. Nel caso di uso endoarticolare in un soggetto umano adulto, l'impiego delle composizioni farmaceutiche secondo la presente invenzione potrebbe fornire una dose settimanale (in una sola somministrazione) di antagonista della bradichinina fra  $6 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-2}$  mMoli (nel caso di MEN16132 corrispondono circa ad una quantità da 0,25 a 5 mg) mentre di acido ialuronico fra 5 e 20 mg.

I seguenti esempi illustrano in maggior dettaglio l'invenzione:

### **Esempio 1**

Acido ialuronico di peso molecolare medio 6 milioni di dalton, 10 mg, MEN16132 0,5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), HCl 0,1 N q.b. fino a pH 4,5, acqua q.b a 1 ml. La soluzione viene posta in siringhe preriempite da 2,25 ml.

### **Esempio 2**

Acido ialuronico di peso molecolare medio 6 milioni di dalton, 10 mg, MEN16132 0,5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), contenente tampone fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,16 mg.

$\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,04 mg), acqua q.b a 1 ml. La soluzione viene posta in siringhe preriempite da 2,25 ml.

### **Esempio 3**

Acido ialuronico di peso molecolare medio 6 milioni di dalton, 10 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), contenente tampone fosfato ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  0,16 mg  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0,04 mg), acqua q.b a 1 ml. MEN16132, sotto forma di liofilo, viene disiolto con la soluzione sopra descritta.

### **Esempio 4**

Acido ialuronico di peso molecolare medio 6 milioni di dalton, 10 mg,

Icatibant 0,5 mg, in soluzione fisiologica (NaCl 0,9%), contenente tampone fosfato (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,16 mg, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,04 mg), acqua q.b a 1 ml. La soluzione viene posta in siringhe preriempite da 2,25 ml.

### **Attività biologica**

L'attività di MEN16132, icatibant e acido ialuronico è stata misurata in un modello sperimentale di osteoartrite indotta dall'iniezione intraarticolare di sodio monoiodoacetato (MIA) che inibendo la glicolisi nei condrociti ne determina sofferenza e morte con conseguente degenerazione della superficie articolare, in maniera del tutto simile all'osteoartrite umana.

MIA (1 mg/25 µl) è stato iniettato nello spazio intraarticolare del ginocchio destro di ratto mentre nel ginocchio sinistro sono stati somministrati 25 µl di salina per avere un controllo interno.

La somministrazione di MIA determina, in maniera duratura per molte settimane, dolore, difficoltà di deambulazione e incapacità di appoggiare normalmente a terra la zampa corrispondente al ginocchio trattato; pertanto il peso del corpo grava principalmente sulla zampa sinistra in maniera direttamente proporzionale al dolore percepito. Dallo sbilanciamento del peso sulle due zampe di appoggio, valutato in maniera non invasiva con l'Incapacitance test, si ha una misura del dolore che è conseguente al danno articolare (osteoartrite) prodotto da MIA.

Lo scopo di questa sperimentazione è stato quello di valutare l'effetto protettivo degli antagonisti del recettore B2 della bradichinina verso l'osteoartrite sperimentale e di verificare quale effetto producesse la cosomministrazione di acido ialuronico.

Sette giorni dopo il trattamento con MIA sono stati iniettati i composti

da studiare e ripetuto il test a vari tempi per avere una misura dell'effetto antidolorifico e della durata d'azione.

MEN16132 e icatibant, a 10 µg/25 µl i.ar. hanno ridotto del 59±9 e 47±6% (n=9), rispettivamente, il dolore indotto dall'osteoartrite con un massimo effetto inibitorio a 3 giorni dalla somministrazione dei composti. La durata dell'effetto antinocicettivo è stata superiore ad una settimana con entrambi i composti.

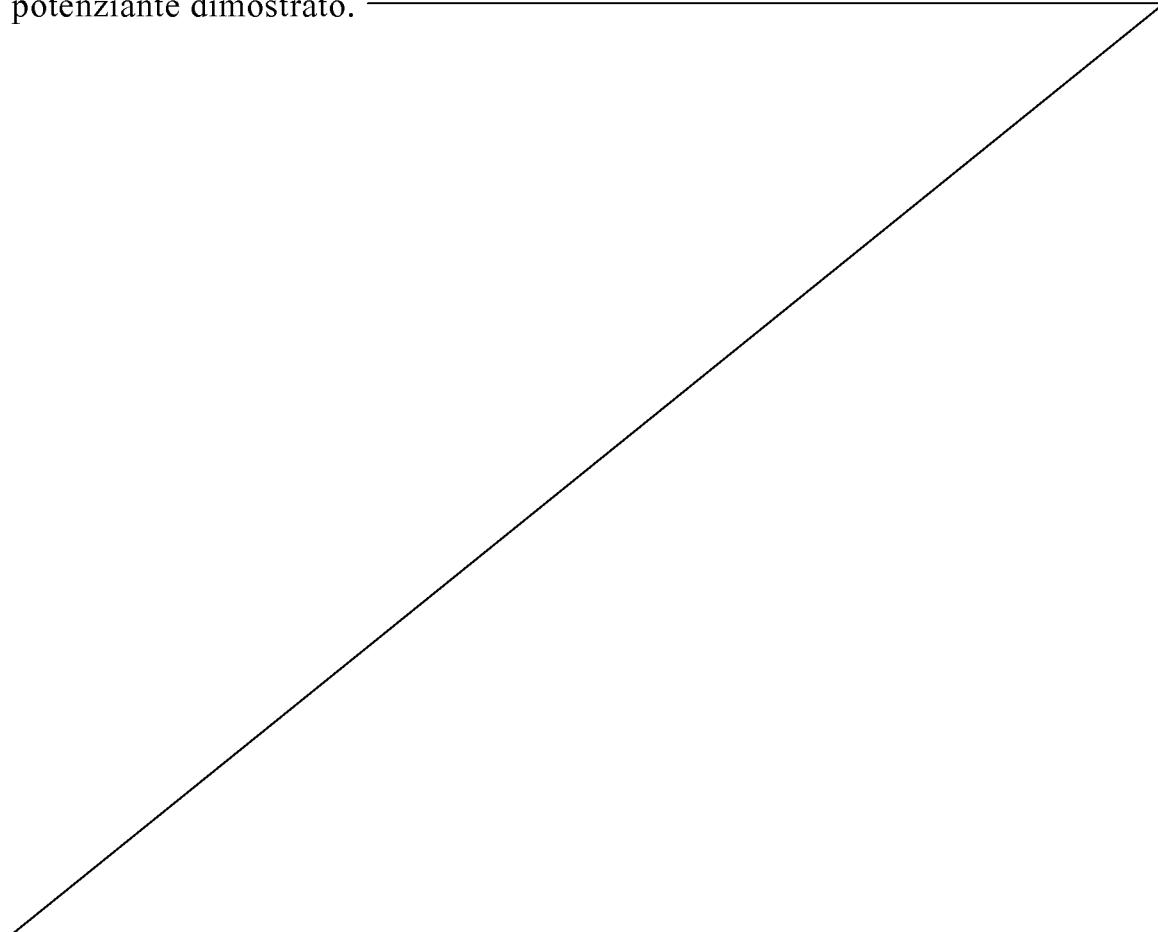
La somministrazione di acido ialuronico (peso molecolare 6 milioni di Dalton, 250 µg/25 µl i.ar.) ha prodotto un modesto effetto antinocicettivo riducendo del 16±10% (n=6) la risposta dolorosa.

La co-somministrazione di MEN16132 o icatibant con acido ialuronico ha prodotto un marcato potenziamento nell'inibire la risposta nocicettiva in ratti in cui è stata indotta osteoartrite con MIA. MEN16132 o icatibant (10 µg/25 µl i.ar.) e acido ialuronico (1 mg/25 µl) hanno ridotto il dolore, misurato come sbilanciamento del peso corporeo tra la zampa non trattata e quella trattata, del 92±7 e 75±6% (n= 7), rispettivamente. Anche dall'osservazione diretta dell'attività motoria i ratti trattati con MEN16132 o icatibant e acido ialuronico hanno assunto un comportamento motorio non diverso dai controlli non osteoartritici. Anche la durata dell'effetto dei due antagonisti del recettore B2 dopo singola somministrazione, è risultata prolungata arrivando a superare due settimane.

Per confermare ulteriormente la sorprendente efficacia dell'associazione con acido ialuronico nel ridurre i sintomi e i danni provocati dall'osteoartrite, è stato effettuato l'esame morfologico e istologico. A 14 giorni dopo il trattamento con l'associazione di MEN16132 o icatibant e acido

ialuronico si è osservata una consistente riduzione, oltre il 50%, dei danni presenti sulla superficie articolare del ginocchio come ridotta perdita dei condrociti, della matrice di glicosamminoglicani ed esposizione dell'osso subarticolare, molto superiore rispetto alla singola somministrazione degli antagonisti B2 o dell'acido ialuronico.

Inoltre l'associazione risulta particolarmente interessante dal punto di vista applicativo perché, mentre gli antagonisti del recettore B2 delle chinine raggiungono l'effetto antinocicettivo lentamente ma con una lunga durata, l'acido ialuronico, ad elevato peso molecolare (6 milioni di Dalton) o un suo sale, produce l'effetto massimo entro poche ore dalla somministrazione. Pertanto l'associazione descritta nella presente invenzione è in grado di essere efficace rapidamente e durare a lungo grazie all'effetto complementare e potenziante dimostrato. ——————



## RIVENDICAZIONI

1. Composizioni farmaceutiche comprendenti, come principi attivi, in miscela fra loro:

a) acido ialuronico

b) un antagonista del recettore B1 o B2 della bradichinina insieme a veicoli ed eccipienti farmaceuticamente accettabili, in cui l'acido ialuronico è in forma di polimero con un P.M. medio compreso fra 0,5 e 10 milioni di dalton, e

l'antagonista della bradichinina è scelto fra:

- antagonisti del recettore B1, scelti nel gruppo:

- c-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-Phe-Ser-D-Nai-IleOH
- Ac-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH
- Ac-Lys-Lys-Arg-Pro-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH
- Ac-Orn-Arg-Oic-Pro-Gly-NMePhe-Ser-D-Nai-Ile-OH
- H-Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-Igl-Oic-OH
- H-Lys-Lys-Arg-Pro-Hyp-Gly-Cpg-Ser-D-Tic-Cpg-OH
- 2-[1-(3,4-Dicloro-benzensulfonil)-3-oxo-1,2,3,4-tetraidro-chinossalina-2-il]-N-[2-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)-fenil]-etil]-acetamide,
- N-[2-[4-(4,5-Diidro-1H-imidazol-2-il)-fenil]-etil]-2-[1-naftalin-2-sulfonil)-3-oxo-1,2,3,4-tetraidro-chinossalina-2-il]-acetamide,
- 3-(3,4-Dicloro-fenil)-N-[1-[4-(4,5-diidro-1H-imidazol-2-il)-benzil]-2-oxo-2-pirrolidin-1-il-etil]-3-(naftalen-2-sulfonil amino)propionamide,
- Acido 4'-(1-[3-[2,2-difluoro-ciclopropancarbonil]-amino]-4-

metil-piridin-2-il-amino]-etil)-5-metil-bifenil-2-carbossilico

metil estere,

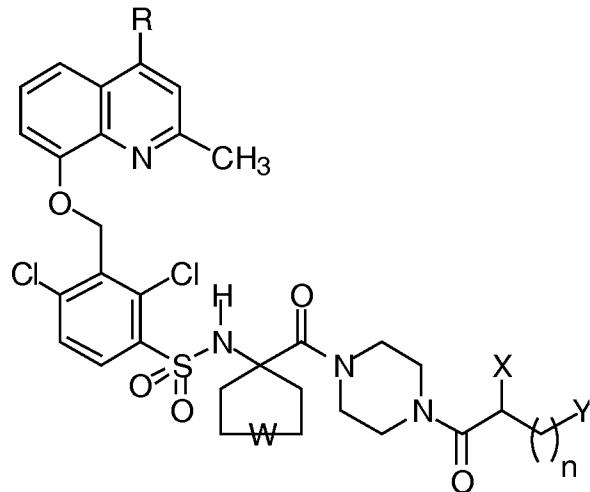
- N-(4-Cloro-2-[1-[3'-fluoro-2'-(3-metil-[1,2,4]oxadiazol-5-il)-bifenil-4-il]-etilamino]-piridin-3-il-)-3,3,3-trifluoro propionamide,
- 3-Benzo[1,3]dioxol-5-il-N-[2-[4-(2,6-dimetil-piperidin-1-il-metil)-fenil]-1-(isopropil-metil-carbamoil)-etil]-3-(6-metossi-naftalin-2-sulfonil amino)-propionamide,
- [2-(2,2-Difenil-etilamino)-5-[4.-[(4-isopropil-piperazin-1-carbonil)-piperidin-1-sulfonil-fenil]-morfolin-4-il]-metanone,
- [2-(2,2-Difenil-etilamino)-5-[4.-[(4-metil-piperazin-1-carbonil)-piperidin-1-sulfonil-fenil]-morfolin-4-il]-metanone,
- Acido 4'-[[1-[(pirimidin-5-carbonil)-amino]-ciclopropancarbonil]-amino)-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- Acido 4'-[[1-[(5-trifluorometil-piridin-3-carbonil)-amino]-ciclopropancarbonil]-amino)-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- N-[4-(4,5-Diidro-1H-imidazol-2-il)-benzil]-2-[2-[(4-metossi-2,6-dimetil-benzensulfonil)-metil-amino]-etossi]-N-metil-acetamide,
- Acido 3,3'-difluoro-4'-[[5-(4-piridin-4-il-piperazin-1-carbonil)-piridin-2-il-amino]-metil]-bifenil-2-carbossilico metil estere,
- N-[6-(tert-Butilamino-metil)-1,2,3,4-tetraido-naftalen-1-il]-2-[1-(3-trifluorometil-benzensulfonil)piperidin-2-il]-acetamide;

- antagonisti del recettore B2, scelti nel gruppo:

- H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-F5F-Igl-Arg-OH
- H-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Igl-Ser-D-Igl-Oic-Arg-OH

- H-D-Arg-Arg-Pro-Hyp-Gly-Thi-Ser-D-Tic-Oic-Arg-OH  
(Icatibant)
- 4-[2-[([3-(3-Bromo-2-metil-imidazo[1,2-a]piridin-8-il-oximetil)-2,4-dicloro-fenil]-metil-carbamoil]-metil)-carbamoil]-vinil]-N,N-dimetil-benzamide,
- 3-(6-Acetilamino-piridin-3-il)-N-([2,4-dicloro-3-(2-metil-chinolin-8-il-oximetil)-fenil]-metil-carbamoil]-metil)-acrilamide,
- Acido 1-[2,4-dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-il-oximetil)-benzensulfonil]-pirrolidin-2-carbossilico [3-(4-carbamidoil-benzoilamino)-propil]-amide (Anatibant),
- Bradizide,
- 4-(4-[1-[2,4-Dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-il-oximetil)-benzensulfonil]-pirrolidin-2-carbonil]-piperazin-1-carbonil)-benzamidina,
- 2-[5-(4-Ciano-benzoil)-1-metil-1H-pirrol-2-il]-N-[2,4-dicloro-3-(2-metil-chinolin-8-il-oximetil)-fenil]-N-metil-acetamide,

- antagonisti del recettore B2, aventi formula generale (I)



(I)

in cui

- R è idrogeno o metile,
- W rappresenta un legame semplice oppure un atomo di O,
- n= 3, 4,
- X è idrogeno oppure un gruppo amminico -NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> in cui R<sub>1</sub> ed R<sub>2</sub> possono essere indipendentemente fra loro idrogeno o un gruppo scelto fra metile, etile, n-propile, isopropile,
- Y è un gruppo ammonico quaternario -NR<sub>3</sub>R<sub>4</sub>R<sub>5</sub> in cui R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub> possono essere indipendentemente fra loro metile, etile, n-propile, isopropile, butile, isobutile, n-pentile,

loro sali farmacologicamente accettabili, enantiomeri e miscele enantiomeriche.

2. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, in cui l'antagonista della bradichinina è un antagonista del recettore B<sub>2</sub> della bradichinina scelto fra:

- icatibant
- un composto di formula generale (I)

3. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, in cui l'antagonista della bradichinina è il composto di formula generale (I):

(4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-ilossimetil)-benzensulfonilamino]-tetraidro-piran-4-carbonil}-piperazin-1-il)-5-oxo-pentil]-trimetil-ammonio in forma salificata con ioni formalmente derivanti da un acido scelto fra: cloridrico, acetico, solforico, trifluoroacetico, metansolfonico, succinico, edetico.

4. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 3 in cui il

composto:

(4-(S)-Amino-5-(4-{4-[2,4-dicloro-3-(2,4-dimetil-chinolin-8-ilossimetil)-benzensulfonilamino]-tetraidro-piran-4-carbonil}-piperazin-1-il)-5-oxo-pentil]-trimetil-ammonio è come cloruro bi-cloridrato (MEN16132).

5. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-4 in cui la quantità di acido ialuronico contenuta per singola dose è 1-100 mg.

6. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 5 in cui la quantità di acido ialuronico contenuta per singola dose è 5-20 mg.

7. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-6 in cui il P.M. medio dell'acido ialuronico varia da 4 a 9 milioni di Dalton.

8. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 7 in cui il P.M. medio dell'acido ialuronico varia da 5 a 8 milioni di Dalton.

9. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-4, in cui la quantità di antagonista del recettore della bradichinina è fra  $5,73 \times 10^{-5}$  e  $2,29 \times 10^{-2}$  mMoli per singola dose che nel caso di MEN16132 corrispondono ad una quantità da 0,05 a 20 mg per singola dose.

10. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 9, in cui la quantità di antagonista del recettore della bradichinina è fra  $1,15 \times 10^{-4}$  e  $1,15 \times 10^{-2}$  mMoli per singola dose, che nel caso di MEN16132 corrispondono ad una quantità da 0,1 a 10 mg per singola dose.

11. Composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 10, in cui la quantità di antagonista del recettore della bradichinina è fra  $6 \times 10^{-5}$  e  $2 \times 10^{-2}$  mMoli per singola dose, che nel caso di MEN16132 corrispondono circa ad una quantità da 0,25 a 5 mg per singola dose.

12. Composizione farmaceutica, secondo le rivendicazioni 1-11, in forma

di soluzione iniettabile, intraarticolare o intraborsale, o transdermica scelta fra crema, gel e cerotto.

13 Composizione farmaceutica, secondo la rivendicazione 12, in cui  
l'antagonista della bradichinina è in forma solida scelta fra cristallina, amorfa  
o liofila, da sciogliere prima dell'uso in una soluzione contenente l'acido  
ialuronico a costituire la soluzione iniettabile intraarticolare o intraborsale.

14. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-13 contenenti anche un tampone scelto fra fosfato o citrato.

15. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-14 contenenti anche cloruro di sodio come regolatore di isotonicità

16. Composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-15 contenenti anche sodio edetato come conservante e chelante.

17. Uso di acido ialuronico in associazione con un antagonista del recettore B1 o B2 della bradichinina, per la preparazione di composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, per la profilassi e la terapia di patologie infiammatorie, autoimmunitarie, traumatiche e degenerative delle articolazioni quali osteoartrite e osteoartrite post-traumatica, osteoartrosi (gonartrosi, spondilartrosi), spondilosi, sinovite, tenosinovite, borsite, contusioni, distorsioni, lussazioni e sublussazioni, e nelle artropatie da alterazioni dello sviluppo quali osteocondrosi, displasie.

18. Uso, secondo la rivendicazione 17, dell'antagonista B2 della bradichinina Men-16132 in associazione con acido ialuronico per la preparazioni di composizioni farmaceutiche per la profilassi e la terapia di patologie infiammatorie, autoimmunitarie, traumatiche e degenerative delle articolazioni quali osteoartrite e osteoartrite post-traumatica, osteoartrosi

(gonartrosi, spondilartrosi), spondilosi, sinovite, tenosinovite, borsite, contusioni, distorsioni, lussazioni e sublussazioni, e nelle artropatie da alterazioni dello sviluppo quali osteocondrosi, displasie.

19. Uso, secondo la rivendicazione 18, dell'antagonista B2 della bradichinina MEN16132 in associazione con acido ialuronico per la preparazione di composizioni farmaceutiche adatte al trattamento di osteoartrite e osteoartrite post-traumatica.

Milano, 23 novembre 2007