



MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
DIREZIONE GENERALE PER LA TUTELA DELLA PROPRIETÀ INDUSTRIALE
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI

UIBM

DOMANDA NUMERO	101996900526933
Data Deposito	21/06/1996
Data Pubblicazione	21/12/1997

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

Titolo

ACIDO IALURONICO AUTORETICOLATO E RELATIVE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE
PER IL TRATTAMENTO DELLE ARTROPATIE

FC

Descrizione di una domanda di brevetto per invenzione industriale dal titolo "ACIDO IALURONICO AUTORETICOLATO E RELATIVE COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE PER IL TRATTAMENTO DELLE ARTROPATIE" della Fidia S.p.A. in Amministrazione Straordinaria, con sede in Via Ponte della Fabbrica 3/A, Abano Terme, Italia, nella persona del suo Legale Rappresentante e Commissario Straordinario, Prof. Riccardo Gallo.

Inventori: Davide BELLINI

Annamaria PAPARELLA

Michael O'REGAN

Lanfranco CALLEGARO

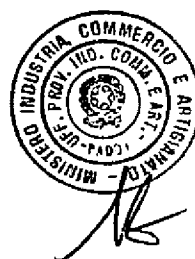
Depositata il 21 GIU. 1996 con n°

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3

*** **

OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione descrive composizioni a base di acido ialuronico autoreticolato, da solo o come primo componente in miscele che contengono come secondo componente acido ialuronico non autoreticolato, eventualmente comprensive di una sostanza farmacologicamente attiva. Tali composizioni, per le loro spiccate proprietà viscoelastiche, possono essere usate efficacemente nel trattamento delle artropatie.



tm

CAMPO DELL'INVENZIONE

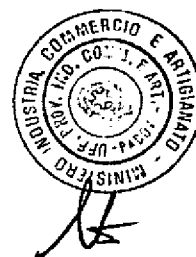
L'acido ialuronico (HA) è un polisaccaride presente in natura. Appartiene alla famiglia dei glicosaminoglicani e si trova a concentrazioni particolarmente alte nella cartilagine e nel liquido sinoviale delle articolazioni. E' stato dimostrato che il liquido sinoviale agisce come un liquido viscoso a bassa frequenza, in corrispondenza di movimenti lenti dell'articolazione, ma presenta un comportamento elastico ad alta frequenza, in corrispondenza di movimenti rapidi dell'articolazione (Balazs E. A., Univ. of Michigan, Med. Ctr. J. (Special Arthritis Issue), December 1968, 255).

Le proprietà viscoelastiche del liquido sinoviale risultano compromesse nei pazienti affetti da artropatie come l'osteoartrosi e l'artrosi reumatoide, come conseguenza di una diminuzione del contributo viscoelastico dell'HA (Kobayashi Y. et al., Biorheology, 1994, 31, 235-244). Questo fatto è illustrato chiaramente nella Fig. 1, che mostra i profili reologici del liquido sinoviale ottenuto dalle articolazioni di volontari sani e di donatori osteoartritici ("The Rheological and Biological Function of Hyaluronic Acid", E. A. Balazs, D. A. Gibbs, in Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix, ed. by E. A. Balazs, Academic Press, 1970). Nel liquido sinoviale normale, a differenza di quello osteoartritico, i valori viscoelastici sono alti e G' e G'' si incrociano. L'esistenza di questo punto d'incrocio è legata non solo alla concentrazione di HA



RM

(2-4 mg/ml), ma anche, e soprattutto, al suo alto peso molecolare (circa 4-5 milioni). D'altra parte, nei soggetti osteoartritici si verifica sia un fenomeno di degradazione dell'acido ialuronico, con conseguente abbassamento del suo peso molecolare, che una diminuzione della sua concentrazione (1-2 mg/ml). La somministrazione tramite iniezione intraarticolare di HA esogeno altamente purificato si è dimostrata efficace nel trattamento dell'osteoartrosi. Questo è dovuto non solo alle eccezionali proprietà viscoelastiche dell'HA, ma anche alle sue potenziali proprietà farmacologiche. In realtà, i prodotti commerciali a base di HA attualmente in vendita per il trattamento dell'osteoartrosi, tramite iniezione intraarticolare, riflettono due modi di pensare per quanto riguarda il meccanismo d'azione dell'HA nel trattamento di tali patologie. Ci sono forti evidenze che l'HA non modificato esibisca un'attività farmacologica, oltre a provocare un temporaneo ripristino delle proprietà viscoelastiche del liquido sinoviale (G. Abatangelo e M. O'Regan, Eur. J. Rheumatol. Inflamm., 1995, 15, 1:9-16; P. Ghosh, Clin. Exp. Rheumatol., 1993, 12, 1-8; R. K. Strachan et al., An. Rheum. Dis., 1990, 49:949-952). D'altra parte, i produttori di derivati di HA crosslinkati chimicamente promuovono l'ipotesi che tali derivati agiscano in maniera puramente meccanica (E. A. Balazs e J. L. Denlinger, J. Rheumatology, 1993, vol. 20, supplement 39: 3-9).



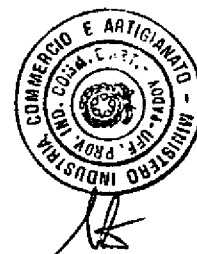
PC1

Altre forme di artropatia, oltre all'osteoartrosi, possono essere il risultato di una modificazione delle proprietà viscoelastiche del liquido sinoviale delle articolazioni, che può verificarsi in seguito a particolari operazioni meccaniche o chirurgiche eseguite sull'articolazione, come l'immobilizzazione in seguito alla distorsione dell'articolazione, o la riparazione delle fratture e l'artroscopia. Nel trattamento delle conseguenze funzionali di tali interventi, la proprietà lubrificante dell'HA o dei suoi derivati potrebbe essere predominante rispetto agli effetti farmacologici a lungo termine di tali composti.

Inoltre, è noto che l'HA ha un ricambio veloce nell'articolazione (Brown T. J. et al., Exp. Physiol., 1991, 76, 125-134; Fraser J. R. E. et al., Semin. Arthritis Rheum., 1993, 22 (Suppl. 1), 9-17; Laurent U. B. G. et al., Matrix, 1992, 12, 130-6). Di conseguenza, un ulteriore obiettivo delle formulazioni descritte nella presente invenzione è quello di aumentare il tempo di permanenza dell'HA esogeno iniettato nelle articolazioni per il trattamento delle artropatie.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Scopo della presente invenzione è di fornire una nuova formulazione capace di migliorare la viscoelasticità ed il tempo di permanenza sinoviale dell'HA esogeno, iniettato nelle articolazioni, per il trattamento delle artropatie.



PM

Tale formulazione consiste in HA autoreticolato, da solo, o come primo componente in miscele che contengono come secondo componente acido ialuronico, in cui il polisaccaride autoreticolato (auto-crosslinked polysaccharide, ACP) viene ottenuto tramite un procedimento di autoreticolazione che porta alla formazione di legami esterei intra- e inter-molecolari senza introdurre ponti estranei tra le catene polimeriche (EP 0341745 B1).

Il componente ACP può essere sintetizzato da HA con un peso molecolare tra 50 kDa e 5.000 kDa, e deve avere un grado di purezza farmaceuticamente accettabile ed un livello di reticolazione tra l'1% ed il 30% rispetto ai gruppi carbossilici del polimero. Alcuni esempi preferiti del componente ACP sono: ACP 5, ACP 10, ACP 15 e ACP 20 dove i numeri 5, 10, 15 e 20 riflettono il livello nominale di reticolazione basato sulla stechiometria della reazione chimica.

I derivati autoreticolati dell'HA possono essere, quindi, vantaggiosamente usati nella preparazione di sospensioni per il trattamento delle artropatie in virtù della loro migliore viscoelasticità rispetto a quella dell'HA naturale, il quale viene rilasciato in seguito alla degradazione di tali derivati autoreticolati. I derivati autoreticolati dell'HA rappresentano pertanto dei materiali viscoelastici ideali, ed inoltre costituiscono un serbatoio di HA naturale pronto ad essere rilasciato lentamente in seguito alla degradazione, con conseguente prolungamento del tempo di



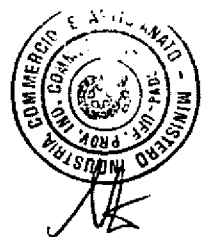
pm

contatto dell'HA naturale con i tessuti articolari. Anche la sicurezza dei derivati autoreticolati dell'HA è potenzialmente migliore di quella dei derivati dell'HA ottenuti tramite reazioni di reticolazione alternative, in quanto l'HA naturale rilasciato dalla degradazione dell'ACP viene metabolizzato dalla sequenza fisiologica di reazioni metaboliche.

Inoltre, poichè gli ACP si comportano come un gel nei mezzi acquosi (Mensitieri et al., Abstract, "12th European Conference on Biomaterials" Porto Portugal, Sept. 10-13, 1995), quando l'HA viene miscelato con i suoi derivati ACP, è possibile ottenere una vasta gamma di preparazioni farmaceutiche adatte al trattamento delle artropatie, in grado di combinare proprietà viscoelastiche e di fungere da serbatoio dell'HA.

Si possono, quindi, compensare le proprietà reologiche non ideali dell'ACP da solo preparando composizioni farmaceutiche composte da miscele di ACP e HA non modificato, il cui rapporto può essere modulato a seconda delle condizioni del paziente e dell'articolazione da trattare.

Le relative proporzioni dell'ACP e dell'HA usati nelle formulazioni della presente invenzione comprendono generalmente ACP/HA in quantità corrispondenti da circa 95:05 a circa 05:95. I rapporti preferiti per le formulazioni in miscela ACP/HA comprendono ACP/HA ad un rapporto di circa 75:25 a circa 25:75.



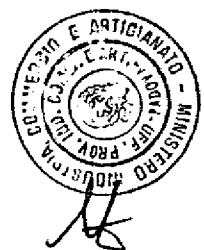
RM

Le formulazioni ACP/HA della presente invenzione possono essere usate per preparare composizioni farmaceutiche e possono comprendere eventualmente delle sostanze farmaceuticamente attive, come anestetici, antibiotici, agenti antiinfiammatori steroidei e non steroidei, agenti antiinfiammatori di tipo ormonale, come per esempio la somatostatina, vitamine epiteliotrofiche, citochine, quali IL-1 e IL-6, recettori delle citochine, fattori di crescita quali l'FGF, ed eccipienti idonei. Inoltre, si possono impiegare composizioni farmaceutiche a partire da miscele di ACP ed HA in cui l'HA è salificato con sali di argento, rame, zinco e calcio. Tali composizioni farmaceutiche possono essere preparate in forma semi-solida o liquida per uso intraarticolare.

La quantità totale di HA, sia in forma di ACP che di HA, può variare tra 3-50 mg. In particolare, un dosaggio idoneo per le composizioni farmaceutiche può comprendere una quantità totale di HA, sia in forma di ACP che di HA, di 20 mg, in un volume finale di 2 ml di eccipiente farmaceuticamente accettabile.

Le formulazioni ACP/HA della presente invenzione possono comprendere acido ialuronico isolato da fonti batteriche (WO 95/04132) o animali (EP 0138572; WO 92/18543) o acido ialuronico ottenuto per sintesi enzimatica *in vitro* (WO 95/24497).

Oggetto della presente invenzione è pertanto quello di fornire nuove composizioni a base di HA e/o ACP, insieme ad eccipienti o



RM

veicoli farmaceutici idonei e/o farmaci per uso intraarticolare, aventi proprietà viscoelastiche idonee per il trattamento delle artropatie.

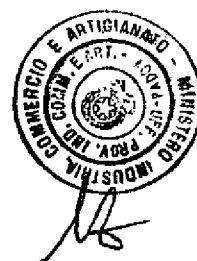
Un secondo oggetto della presente invenzione è di preparare composizioni farmaceutiche che agiscano da serbatoio per l'HA naturale.

Un ulteriore oggetto della presente invenzione riguarda un metodo di trattamento delle artropatie, caratterizzato dalla somministrazione nell'articolazione del paziente di una quantità efficace di HA e/o ACP, che presentino proprietà viscoelastiche ed un tempo di permanenza idonei, a seconda della gravità della patologia da trattare.

I suddetti obiettivi, come altri, sono perseguibili attraverso l'impiego di una delle seguenti combinazioni:

1. Una forma autoreticolata di acido ialuronico da solo;
2. o come primo componente in miscele che contengono, come secondo componente, acido ialuronico ed, eventualmente, una sostanza farmaceuticamente attiva per uso intraarticolare.

Pur riferendosi a preparazioni preferite secondo la presente invenzione, gli esempi che seguono servono solamente a scopo illustrativo ed ogni modifica che risultasse ovvia per l'esperto del ramo deve ritenersi compresa nell'ambito della presente invenzione.



RM

ESEMPI DI PREPARAZIONE

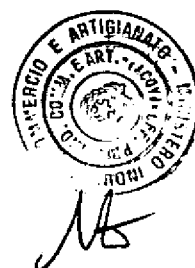
Esempio 1: Preparazione di una formulazione a base di ACP/HA in cui il componente ACP è autoreticolato ad un grado nominale del 5%

HA a peso molecolare nel range di 500-730 kDa è stato reticolato ad un livello nominale del 5%.

Sono state preparate delle formulazioni di ACP/HA ad una concentrazione finale dell'1% p/p in tampone fosfato (NaCl 0,15M, sali di fosfato 0,002M) a pH=6,5, miscelando ACP/HA a vari diversi rapporti, da 0/100 a 100/0%. Le sospensioni sono state lasciate a rigonfiare per 24 ore.

Le proprietà reologiche delle miscele di ACP/HA sono state misurate con uno strumento idoneo (Rheometrics Fluid Spectrometer, RFS-8500), fornito di diverse geometrie (piatti paralleli con diametro di 50 mm e distanza tra loro di 1mm o 2 mm e sistema Couette: diametro del cilindro inferiore di 34 mm, e diametro e lunghezza di quello superiore di 32 mm) ad una temperatura costante di 25°C. Dalle misure in regime oscillatorio (valore di deformazione al 10%), i parametri viscoelastici G' (modulo elastico), G'' (modulo viscoso) ed η^* (viscosità complessa) sono stati ottenuti in un range di frequenze di 0,01-100 rad/sec.

Le misurazioni hanno indicato che gli ACP, dispersi ad una concentrazione polimerica sufficientemente alta e rigonfiati in



PM

mezzo acquoso, producono dei sistemi apparentemente solidi, viscoelastici e trasparenti. Lo spettro viscoelastico riportato nella Figura 2A (ACP/HA 100/0) dimostra chiaramente un comportamento simile a quello dei gel. In particolare, $G'(\omega) > G''(\omega)$ nell'intero range di frequenze indagato, e sia G' che G'' sono lievemente dipendenti dalla frequenza. Il rapporto G'/G'' ($\tan \delta$) raggiunge un valore costante (0,3) per frequenze inferiori a 2 rad.sec e aumenta leggermente (fino a 0,4) con l'incremento della frequenza. La viscosità complessa, η^* , è fortemente dipendente dalla frequenza, seguendo la legge della potenza nell'intero range di frequenze indagato. L'esponente apparente della legge di potenza è ≈ -0.82 .

Usando la stessa deformazione (0,1 unità) i valori assoluti dei moduli e della viscosità complessa, ma non il comportamento viscoelastico, sono risultati notevolmente influenzati dalla geometria usata. Tale risultato riflette il carattere non omogeneo del sistema. La risposta dell'ACP (100/0), simile a quella dei gel, è molto diversa dal comportamento tipico dell'HA (Kobayashi Y. et al. Biorheology, 1994, 31, 235-244).

Come illustrato nella Figura 2D (ACP/HA 0/100), lo spettro meccanico dimostra che $G''(\omega) > G'(\omega)$ e nella regione terminale $G' \propto \omega^2$ e $G'' \propto \omega$. Inoltre, $\eta^*(\omega)$ è essenzialmente indipendente dalla frequenza. Miscelando i due polimeri in rapporti diversi e tenendo





costante la concentrazione totale di polimero (1% p/p), è possibile ottenere un vasta gamma di sistemi a due componenti. In particolare, una miscela ricca di HA (ACP/HA 30/70) può essere considerata come una sospensione in cui il componente disperso è costituito da particelle di ACP rigonfiate ed il componente continuo è la soluzione acquosa dell'HA. Al contrario, una miscela ricca di ACP (ACP/HA 75/25) può essere considerata come un "composto" in cui il componente continuo è molto più rigido del componente disperso, costituito dalla soluzione acquosa di HA.

Si potrebbe pensare che la risposta meccanica di tali sistemi sia dominata dalle proprietà viscoelastiche del componente continuo. Infatti, lo spettro viscoelastico della miscela ricca di HA (Fig. 2C, 30/70), dimostra un comportamento di tipo liquido in tutto il range di frequenze indagate. Comunque, in confronto al solo HA (Fig. 2D), i valori assoluti di G' e G'' sono maggiori (con un notevole aumento in modo particolare di G') soprattutto nella regione terminale relativa alle frequenze corrispondenti ai movimenti dell'articolazione nell'atto di camminare normalmente. D'altra parte, lo spettro viscoelastico della miscela ricca di ACP (Fig. 2B, 75/25) ha mostrato un comportamento tipico dei gel, simile a quello dell'ACP da solo, ma con una diminuzione di entrambi i moduli, soprattutto a bassa frequenza. In questo caso, G' e G'' si sono dimostrati più dipendenti dalla frequenza. I cambiamenti a bassa



PC

frequenza osservati in entrambi le miscele riflettono le enormi differenze fra i moduli dei due componenti nel mezzo.

Come dimostrato chiaramente in Figura 3, alla frequenza che corrisponde approssimativamente al movimento dell'articolazione durante l'atto di camminare (0,72 rad/sec) (Kobayashi et al., Biorheology, 1994, sopra) ed a $T=25^{\circ}\text{C}$, G' e G'' si incrociano in funzione del contenuto di ACP nelle miscele. In particolare, è risultata evidente una "transizione" da un comportamento di tipo liquido ad uno di tipo solido approssimativamente in corrispondenza del 50% p/p del contenuto di ACP nella miscela.

La Fig. 4 mostra il confronto tra la viscosità dinamica delle formulazioni a diverso rapporto di ACP/HA (100/0 - 0/100). Il miglioramento delle proprietà viscoelastiche delle composizioni con un contenuto crescente di ACP è chiaramente evidente.

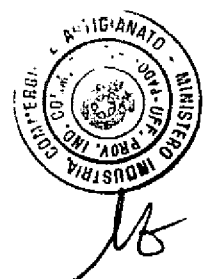
Esempio 2: Preparazione di una formulazione a base di ACP/HA in cui il componente ACP è autoreticolato in diverse misure

Polisaccaridi autoreticolati carbossilici (ACP) sintetizzati da acido ialuronico (HA) (640,000 Da), usati per preparare miscele di ACP/HA, contenevano i seguenti parametri:

ACP 20% 0,5% H₂O

ACP 10% 0,5% H₂O

ACP 5% 0,5% H₂O





I valori 20, 10 e 5% si riferiscono alla percentuale nominale di esterificazione, mentre 0,5% indica la quantità di acqua aggiunta durante la sintesi.

Le formulazioni sono state preparate miscelando diverse quantità di ACP e HA (640.000 Da) in tampone fosfato (NaCl 0,15M e sali di fosfato 0,002M) a pH=6,5. Le miscele hanno tutte la concentrazione finale di 10 mg/ml e sono state preparate in un range di rapporto ACP/HA compreso tra 100/0 e 0/100%. Le sospensioni sono state, quindi, lasciate a rigonfiare per 24 ore e poi filtrate su filtri di vetro con fori di 100-40 μ m.

Le misurazioni reologiche sono state rilevate con un reometro (Fluid Spectrometer RFS 8500, Rheometrics). Le geometrie sono state scelte secondo la viscosità delle soluzioni: piatti paralleli (distanza 2 mm) per soluzioni piuttosto viscosi e sistema Couette (distanza 1 mm) per soluzioni poco viscosi.

Gli studi sono stati eseguiti in regime oscillatorio (gradiente di frequenza con range = 100-0,05 rad/sec. deformazione = 10%, T=25°C).

Le formulazioni costituite da ACP/HA a 100/0 sono caratterizzate in genere dal fatto che G' è più alto di G'' per tutto il range di frequenze indagate (Fig. 5). Mantenendo costante il grado di reticolazione, l'aggiunta di quantità maggiori di HA alla miscela porta a valori più bassi di viscosità, mentre G' e G'' tendono ad avvicinarsi (Fig. 6).



PM

In particolare, nel caso di formulazioni con un contenuto di ACP del 50%, G' e G'' possono, secondo il tipo di ACP in esame, sovrapporsi o incrociarsi in corrispondenza di una o due diverse frequenze (Fig. 7, 8).

Le Fig. 9, 10 e 11 mostrano l'effetto della percentuale di esterificazione sulla viscosità delle formulazioni di ACP/HA a diversi rapporti.

Si può concludere, dagli spettri viscoelastici, che per le formulazioni ACP/HA con un alto contenuto di ACP (per es. 100/0) l'andamento della viscosità è del tipo $20\% > 10\% > 5\%$ (Fig. 9), mentre per le miscele 50/50 il risultato è di $20\% > 5\% > 10\%$ (Fig. 10). Infine, le miscele di ACP/HA 40/60, a partire da ACP 20% e ACP 5%, presentano soltanto differenze minime nella viscosità (Fig. 11).

Se l'obiettivo è di raggiungere valori alti di viscosità, si dovrebbe usare ACP con un alto grado di reticolazione (ACP 20%) da solo (100/0) o miscelato con piccole quantità di acido ialuronico (per es. 75/25). Se, invece, i valori desiderati di viscoelasticità non sono alti (ACP/HA 40/60, 30/70), allora la percentuale di autoreticolazione è un fattore meno decisivo.

I risultati qui sopra descritti indicano che la reticolazione dell'HA per formare l'ACP porta ad un derivato HA con proprietà viscoelastiche superiori a quelle dell'HA non modificato. Inoltre, le proprietà reologiche dell'ACP possono essere modulate preparando





composizioni che consistono di miscele di ACP/HA a diversi rapporti peso/peso.

Sebbene l'ACP formulato in opportuni eccipienti farmaceutici presenti un profilo reologico simile a quello del gel, sono stati ottenuti risultati sorprendenti miscelando diverse quantità di ACP 10% 100/0 con il liquido sinoviale di cavalli non osteoartritici.

Le Fig. 12 e 13 mostrano rispettivamente i profili reologici del liquido sinoviale equino e dell'ACP 10% 100/0 formulato in eccipienti farmaceutici ad una concentrazione di 10 mg/ml. Le miscele di ACP 10% con il liquido sinoviale a concentrazioni finali di 3,3 e 5 mg/ml di ACP gel (Fig. 14 e 15) presentano non solo un aumento decisivo in tutti i parametri viscoelastici in confronto al solo liquido sinoviale, ma anche un profilo reologico teoricamente ideale in confronto al solo ACP. Infatti, G' e G'' che scorrono paralleli nelle formulazioni a base di ACP, si incrociano o tendono ad incrociarsi in presenza del liquido sinoviale, secondo la quantità di ACP aggiunto.

Questi risultati indicano che, sorprendentemente, l'aggiunta di ACP al liquido sinoviale ad una concentrazione come quella che ci si aspetterebbe di trovare dopo l'iniezione di composizioni farmaceutiche nelle articolazioni, potrebbe modificare il profilo reologico tipico degli ACP.





Esempio 3: Confronto tra le proprietà viscoelastiche di ACP e prodotti a base di HA, già esistenti in commercio, per il trattamento dell'osteoartrosi tramite iniezione intraarticolare

Alcuni prodotti a base di HA attualmente sul mercato e usati per trattare artropatie mediante iniezione intraarticolare sono:

- ARTZ (Seikagaku, Giappone), una formulazione a base di HA con un peso molecolare compreso fra 600.000 e 1.200.000 Da;
- SYNVISIC (Biomatrix, U.S.A.), un sistema a due componenti composto da una miscela di due derivati crosslinkati dell'HA, hylan fluid e hylan gel (US 4,713,448);
- HYALGAN (Fidia), una formulazione a base di HA con un peso molecolare fra 500.000 e 730.000 (EP 0138572 B1).

La viscosità dinamica dell'ACP 20%, 0,5% acqua è stata confrontata con quella dei suddetti prodotti farmaceutici. Le quattro formulazioni hanno caratteristiche simili per quanto riguarda la concentrazione finale di HA e gli eccipienti farmaceutici presenti. I risultati del confronto, mostrati in Fig. 16, indicano che la formulazione contenente ACP ha una viscosità dinamica superiore a quella dei tre prodotti in commercio.

Lo sviluppo delle composizioni ACP/HA è stato dettato, pertanto, dalla necessità di disporre di composizioni farmaceutiche nuove in grado di esibire proprietà viscoelastiche migliori, con conseguenti



Ru

tempi di permanenza nell'articolazione più lunghi rispetto ai prodotti a base di HA attualmente in commercio per il trattamento delle artropatie. Come si è detto, la variazione del rapporto ACP/HA in queste composizioni permette di ottenere proprietà reologiche ottimali, a seconda del tipo di artropatia da trattare.

Esempio 4: Preparazione di una sospensione iniettabile contenente principio attivo a base di acido ialuronico autoreticolato (ACP)

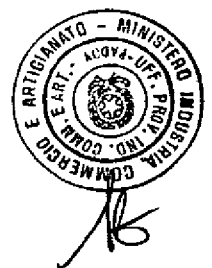
Un flaconcino da 2 ml contiene:

- | | |
|---|--------|
| - acido ialuronico autoreticolato (ACP) | 20 mg |
| - sodio cloruro | 17 mg |
| - sodio fosfato monobasico biidrato | 0,1 mg |
| - sodio fosfato bibasico dodecaidrato | 1,2 mg |
| - acqua p.p.i. | 2 ml |

Esempio 5: Preparazione di una sospensione iniettabile contenente come principio attivo una miscela a base di acido ialuronico autoreticolato e acido ialuronico sale sodico (75/25)

Una siringa preriempita da 2 ml contiene:

- | | |
|--|-------|
| - acido ialuronico autoreticolato (ACP) | 15 mg |
| - acido ialuronico sale sodico (Hyalectin) | 5 mg |
| - sodio cloruro | 17 mg |



Ru

- sodio fosfato monobasico biidrato 0,1 mg
- sodio fosfato bibasico dodecaidrato 1,2 mg
- acqua p.p.i. 2 ml

Esempio 6: Preparazione di una sospensione iniettabile contenente come principio attivo una miscela a base di acido ialuronico autoreticolato veicolante un farmaco ad attività antiinfiammatoria come il Metilprednisolone 21-succinato sale sodico

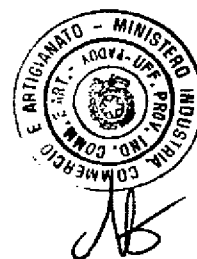
Una siringa preriempita da 2 ml contiene:

- acido ialuronico autoreticolato (ACP) 20 mg
- Metilprednisolone 21-succinato sale sodico 10 mg
- sodio cloruro 18 mg
- acqua p.p.i. 2 ml

Esempio 7: Preparazione di una sospensione iniettabile contenente come principio attivo una miscela a base di acido ialuronico autoreticolato e acido ialuronico sale sodico (75/25) veicolante un farmaco ad attività antiinfiammatoria come il Triamcinolone fosfato sale sodico.

Un flaconcino da 2 ml contiene:

- acido ialuronico autoreticolato (ACP) 15 mg



Handwritten signature

- | | |
|--|-------|
| - acido ialuronico sale sodico (Hyalectin) | 5 mg |
| - Triamcinolone fosfato sale sodico | 20 mg |
| - sodio cloruro | 18 mg |
| - acqua p.p.i. | 2 ml |

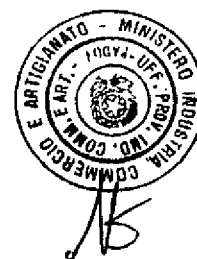
Essendo l'invenzione così descritta, è evidente che può essere modificata in vari modi. Tali modificazioni non sono da considerarsi come divergenze dallo spirito e dagli scopi dell'invenzione, e tutte quelle modificazioni che apparirebbero ovvie all'esperto del ramo sono comprese nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI

1. Una composizione farmaceutica che comprende:

(1) un acido ialuronico autoreticolato da solo o una miscela contenente acido ialuronico autoreticolato ed acido ialuronico non autoreticolato eventualmente associati ad una sostanza farmacologicamente attiva e (2) un eccipiente idoneo, e caratterizzata dal fatto di essere;

(a) dosata in maniera idonea per la somministrazione nell'uomo;
e (b) in una forma in cui il componente (1) è dosato in maniera tale da esibire proprietà viscoelastiche in pazienti affetti da artropatie.



Handwritten signature

- | | |
|--|-------|
| - acido ialuronico sale sodico (Hyalectin) | 5 mg |
| - Triamcinolone fosfato sale sodico | 20 mg |
| - sodio cloruro | 18 mg |
| - acqua p.p.i. | 2 ml |

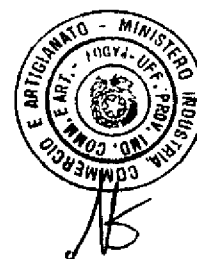
Essendo l'invenzione così descritta, è evidente che può essere modificata in vari modi. Tali modificazioni non sono da considerarsi come divergenze dallo spirito e dagli scopi dell'invenzione, e tutte quelle modificazioni che apparirebbero ovvie all'esperto del ramo sono comprese nell'ambito delle seguenti rivendicazioni.

RIVENDICAZIONI

1. Una composizione farmaceutica che comprende:

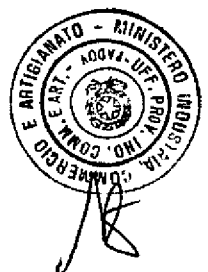
(1) un acido ialuronico autoreticolato da solo o una miscela contenente acido ialuronico autoreticolato ed acido ialuronico non autoreticolato eventualmente associati ad una sostanza farmacologicamente attiva e (2) un eccipiente idoneo, e caratterizzata dal fatto di essere;

(a) dosata in maniera idonea per la somministrazione nell'uomo;
e (b) in una forma in cui il componente (1) è dosato in maniera tale da esibire proprietà viscoelastiche in pazienti affetti da artropatie.



FC

2. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, dove il componente (1) è un acido ialuronico autoreticolato.
3. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, dove il componente (1) è una miscela di un acido ialuronico autoreticolato ed un acido ialuronico non autoreticolato.
4. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1, dove il componente (1) è una miscela di acido ialuronico autoreticolato, un acido ialuronico non autoreticolato ed una sostanza farmacologicamente attiva.
5. Una composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1-4, in cui l'acido ialuronico ha un peso molecolare fra 500.000 e 1.230.000 e, preferibilmente, fra 500.000 e 730.000 D.
6. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un antibiotico.
7. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un agente antiinfiammatorio steroideo.
8. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un agente antiinfiammatorio non steroideo.





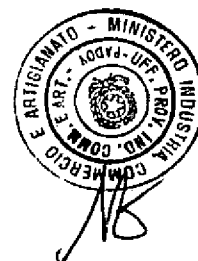
9. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un anestetico.
10. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è una vitamina epiteliotrofica.
11. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un agente anti-infiammatorio/analgesico di tipo ormonale.
12. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è una citochina.
13. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un recettore delle citochine.
14. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui la sostanza farmaceuticamente attiva del componente (1) è un fattore di crescita.
15. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui l'acido ialuronico non autoreticolato del componente (1) è l'acido ialuronico salificato.
16. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in cui l'acido ialuronico non autoreticolato del componente (1) è



- acido ialuronico salificato con un sale di argento, rame, zinco, calcio.
17. Una composizione farmaceutica secondo le rivendicazioni 1-16 in cui la forma di dosaggio è adatta ad una somministrazione intraarticolare.
18. Una composizione della rivendicazione 1 in cui le proporzioni relative all'acido ialuronico autoreticolato e non autoreticolato possono variare a seconda delle condizioni del paziente e dell'articolazione da trattare.
19. Una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 18, in cui le proporzioni relative all'acido ialuronico autoreticolato e non autoreticolato sono da circa 95:05 a circa 05:95 e, preferibilmente, da circa 75:25 a circa 25:75.
20. Un metodo di trattamento che comprende la somministrazione intraarticolare di una quantità efficace di una composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 1 in pazienti affetti da artropatie.

VIDIA S.p.A.
In Amministrazione Straordinaria
IL COMMISSARIO
(Prof. Ing. Riccardo Gallo)

Riccardo Gallo



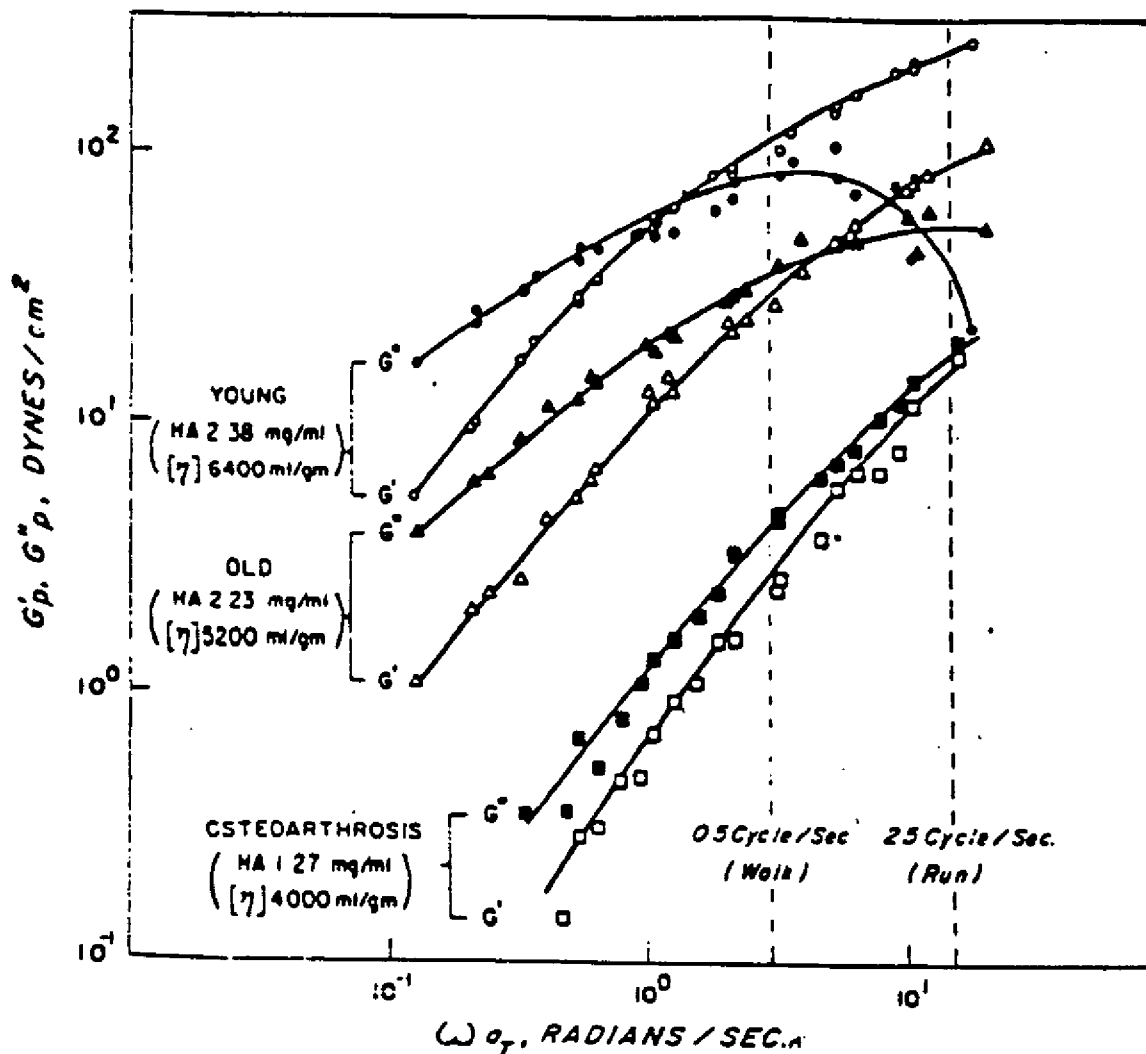


FIG. 1: Spettri viscoelastici relativi a fluido sinoviale umano di donatori sani (giovani ed anziani) ed osteoartitici.

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



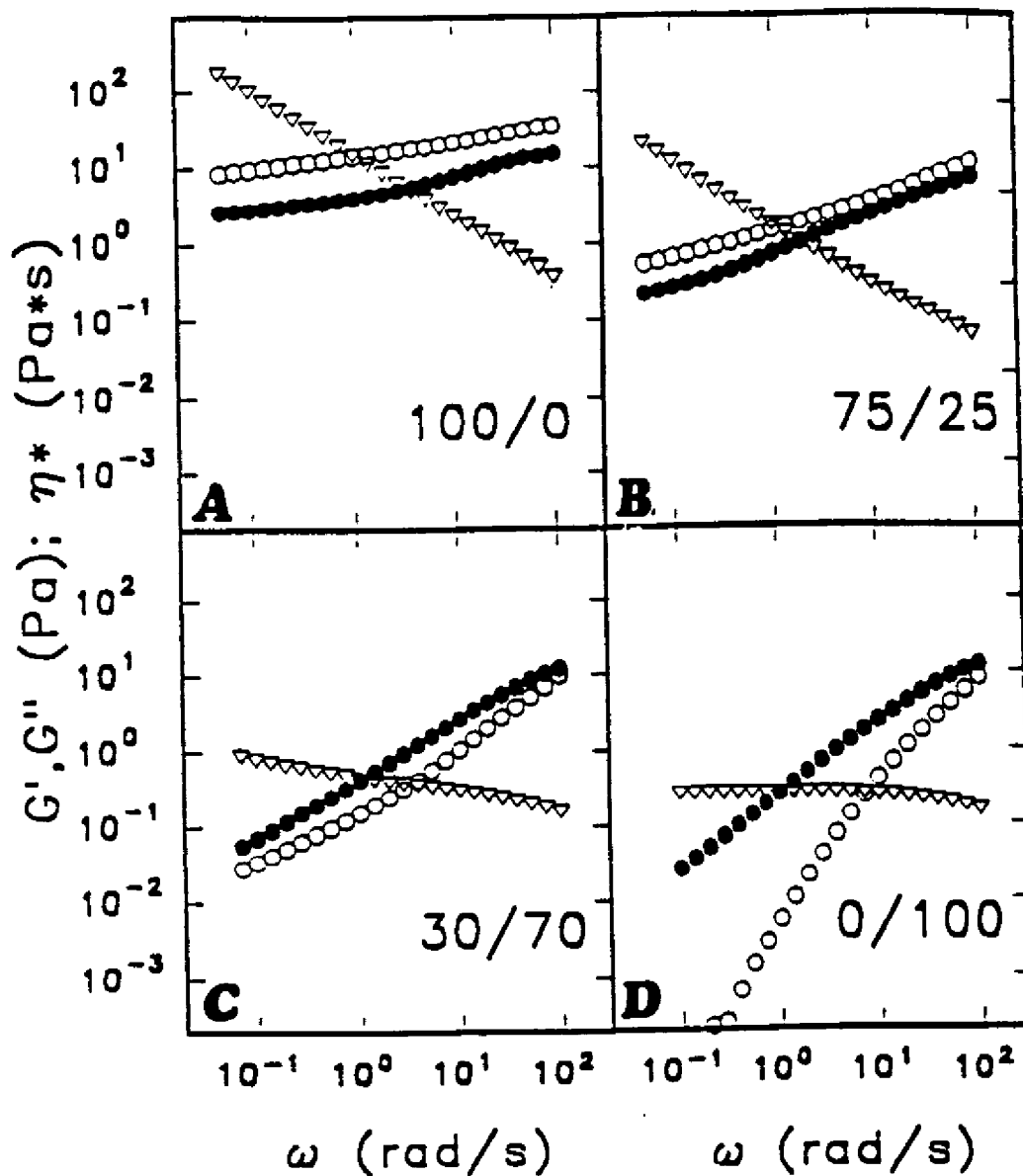


Fig. 2: Spettri viscoelastici di miscele di ACP/HA in tampone fosfato, $C_p=1\%$ w/w, $T=25^\circ\text{C}$ (G' , (°); G'' , (•); η^* , (∇))

PD 96 A 000 163



PM

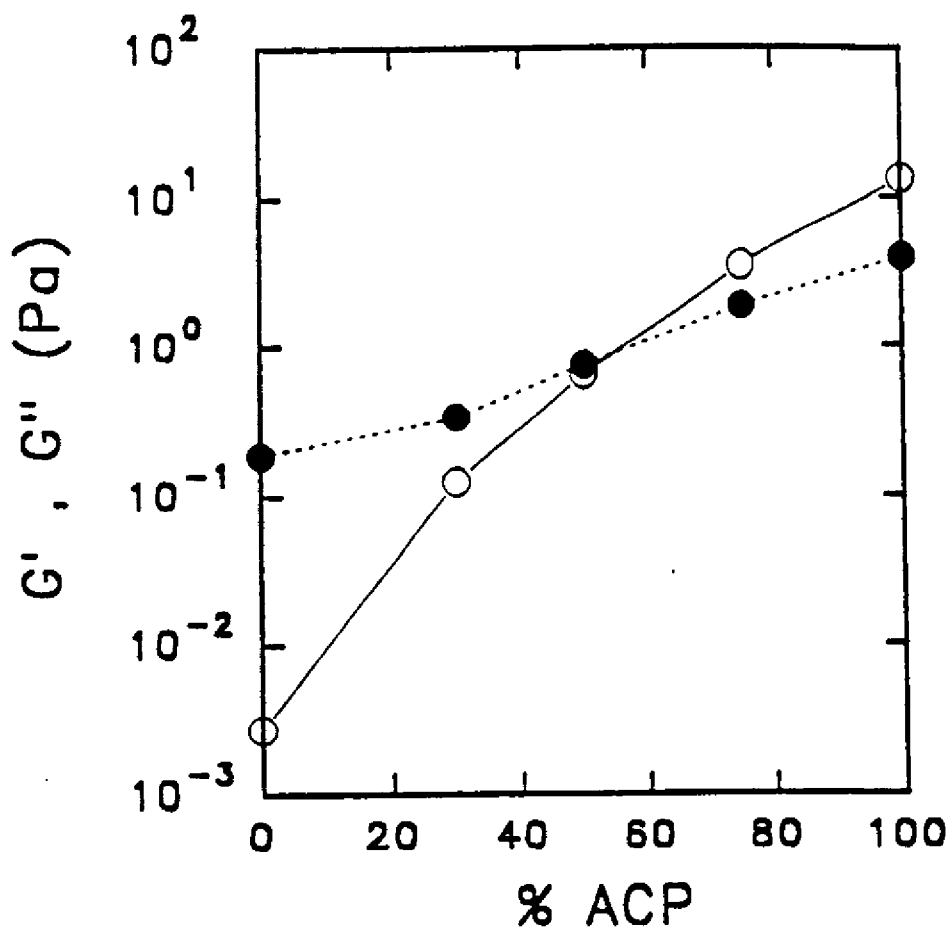


Fig. 3: G' , (°) e G'' , (•), come funzione del contenuto di ACP (%).

Frequenza=0.72 rad/s (corrispondente al movimento dell'articolazione nell'atto di camminare normalmente),

$T=25^{\circ}\text{C}$.

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



AS

ACP/HA FORMULATIONS (10 mg/ml)

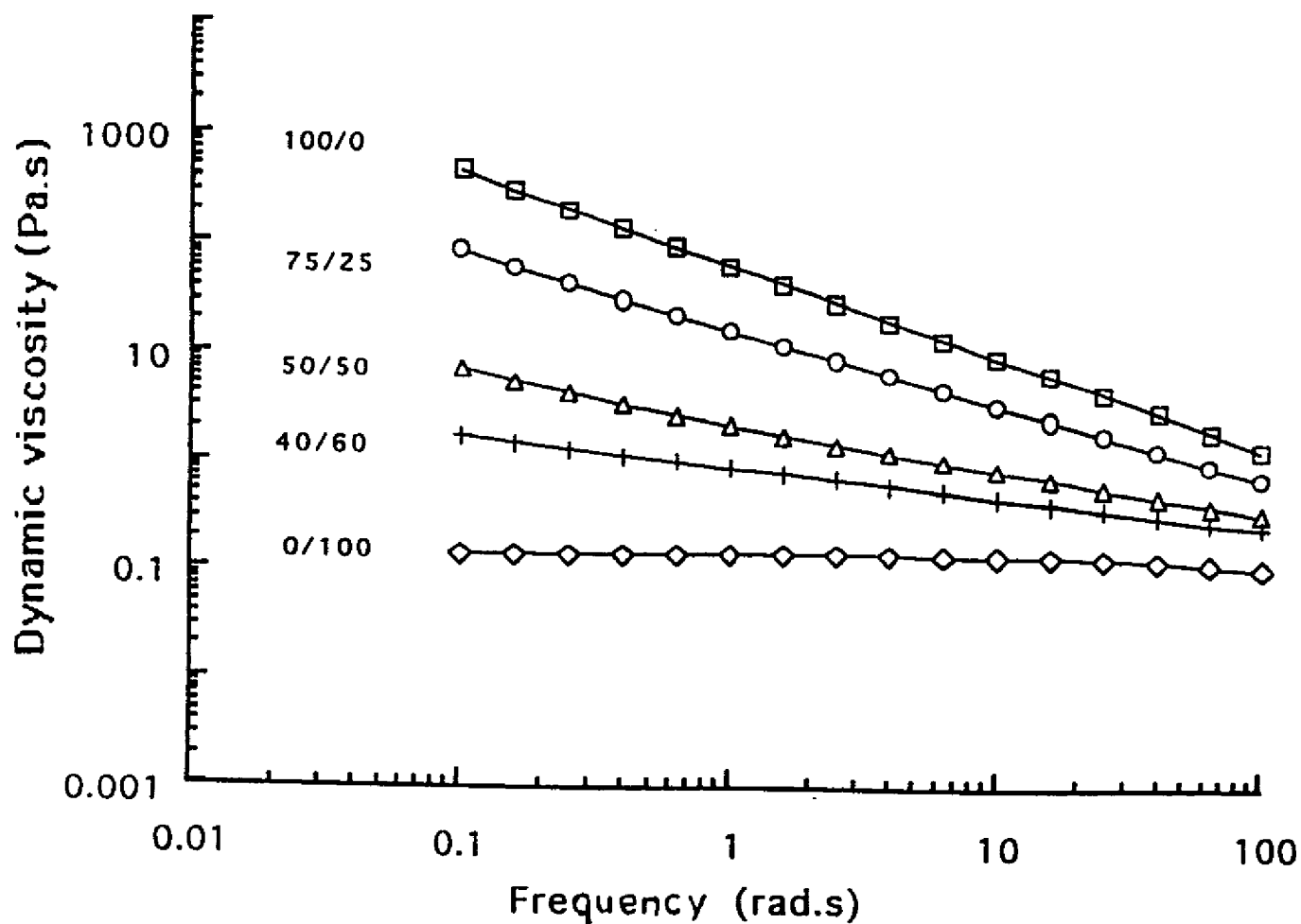


FIG. 4: Confronto tra viscosità dinamiche di formulazioni a diverso rapporto di ACP/HA.

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



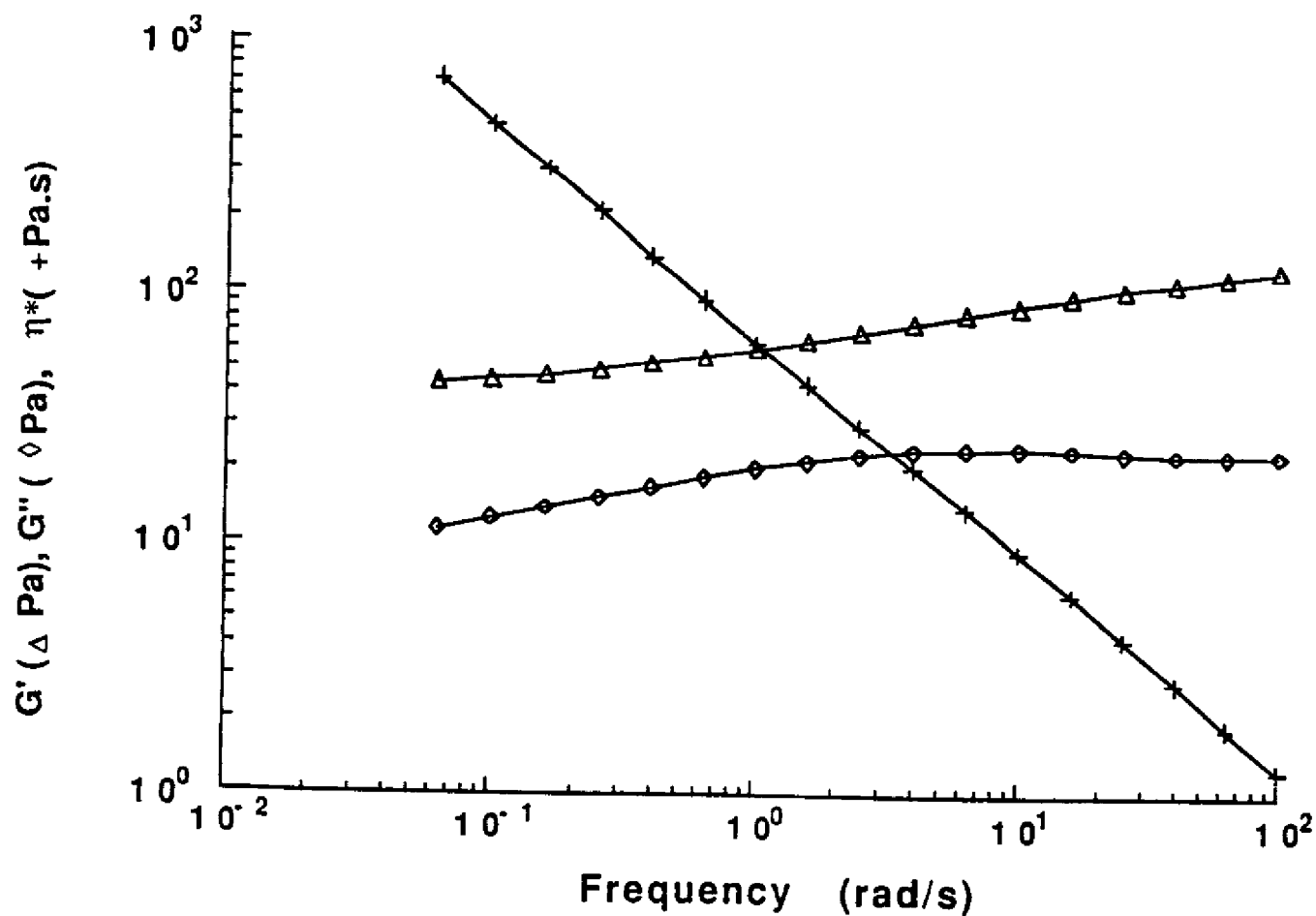


FIG. 5: Spettro viscoelastico di una formulazione ACP/HA, 100/0 (ACP 20%, 0.5% H₂O)

PD 96 A 000 163



RM

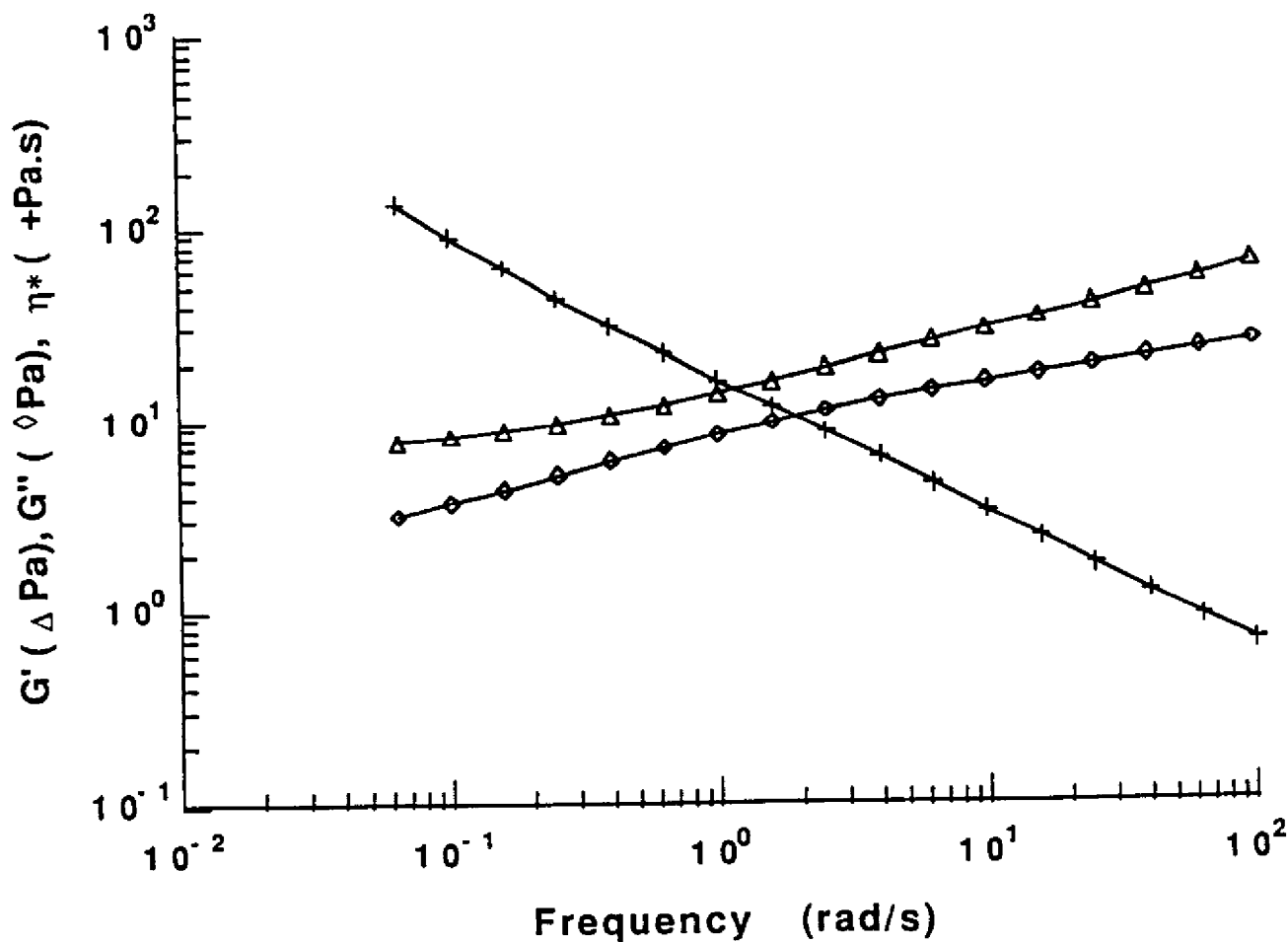


FIG. 6: Spettro viscoelastico di una formulazione ACP/HA, 75/25 (ACP 20%, 0.5% H2O)

PD 96 A 000 163



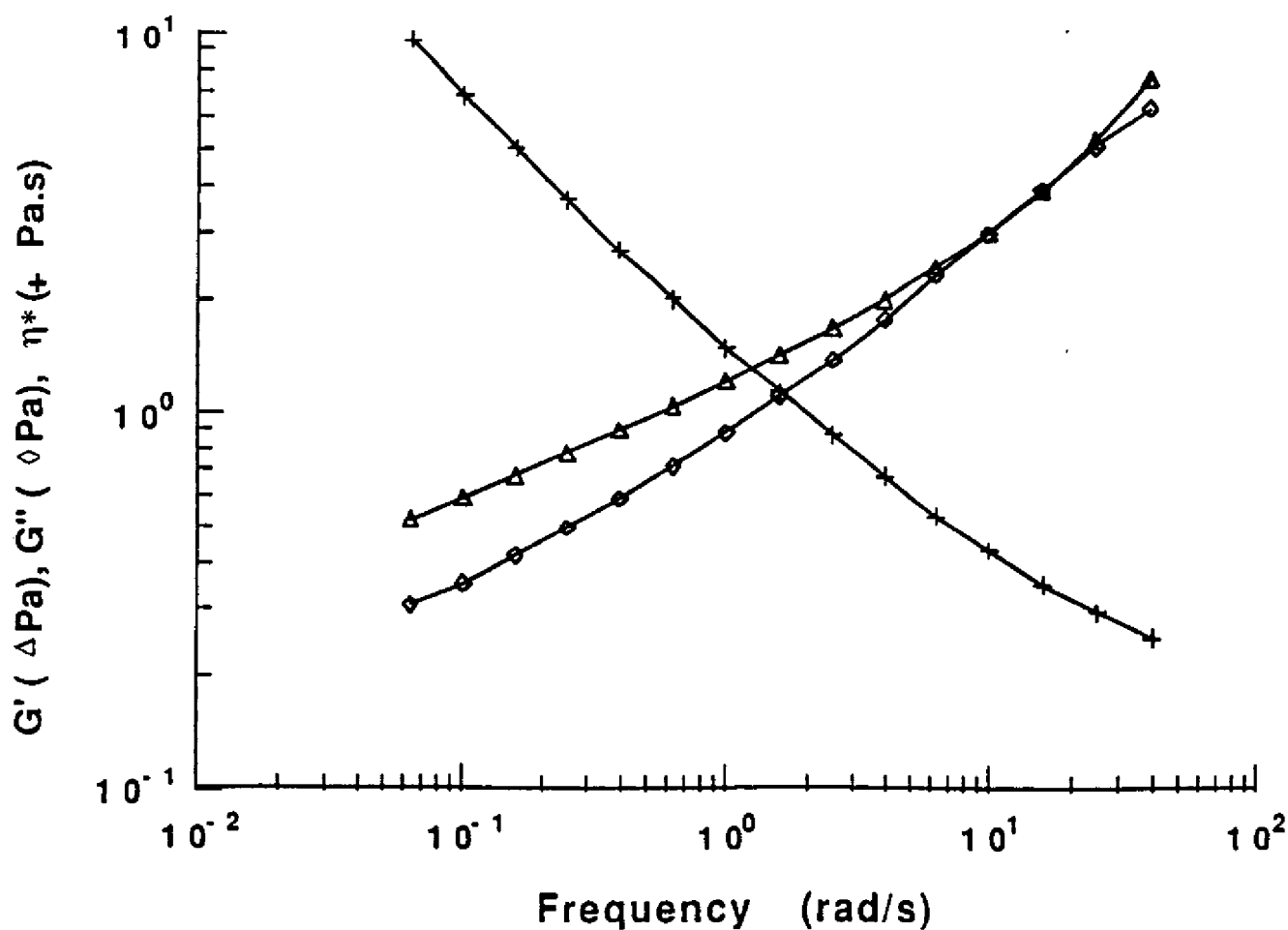


FIG. 7: Spettro viscoelastico di una formulazione ACP/HA, 50/50 (ACP 5%, 0.5% H₂O)

PD 96 A 000 163



In Appendice alla relazione
PC

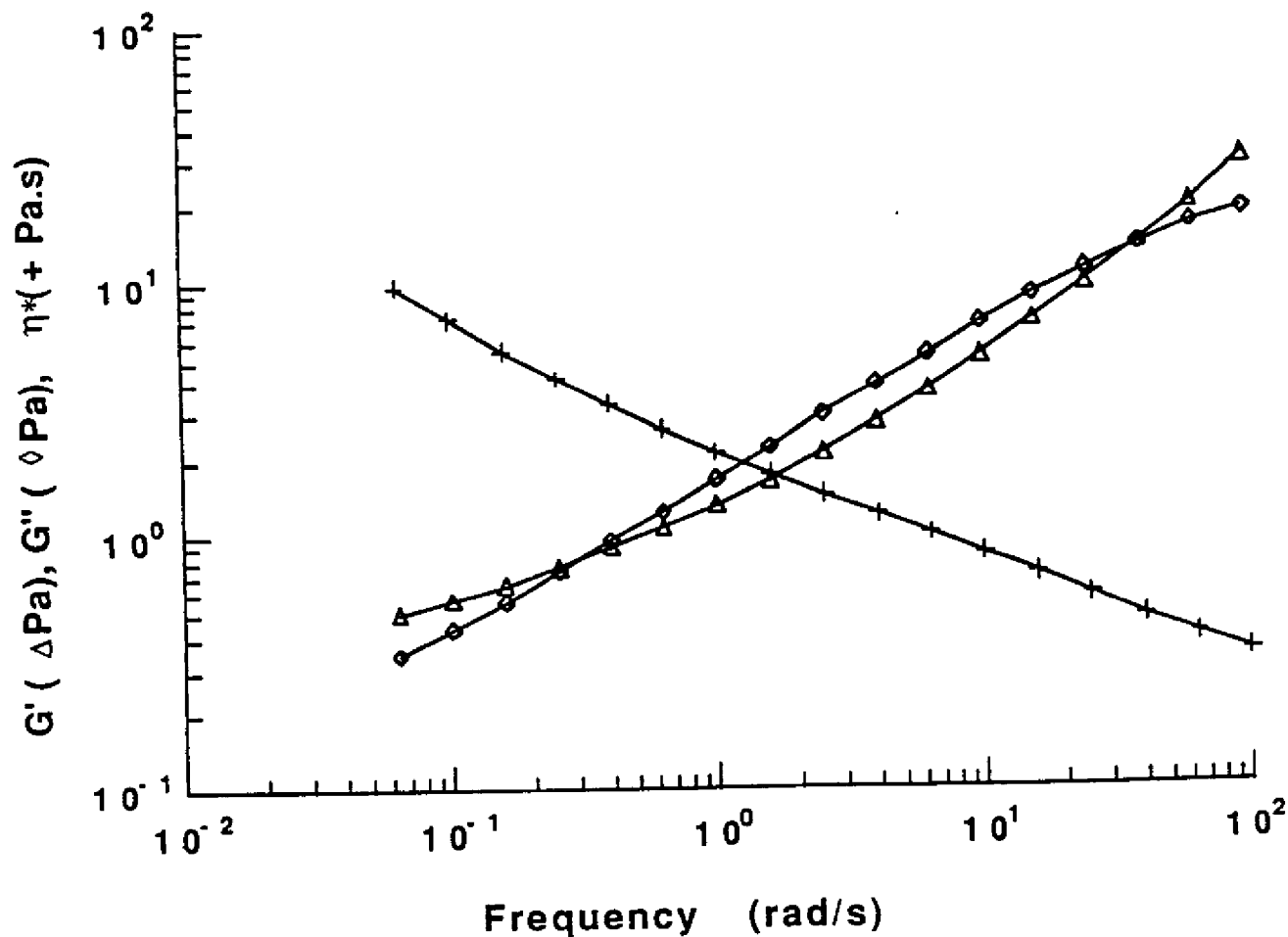
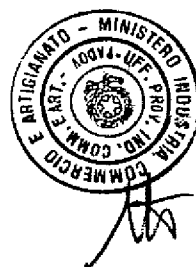


FIG. 8: Spettro viscoelastico di una formulazione ACP/HA, 50/50 (ACP 20%, 0.5% H₂O)

PD 96 A 000 163



Handwritten signature

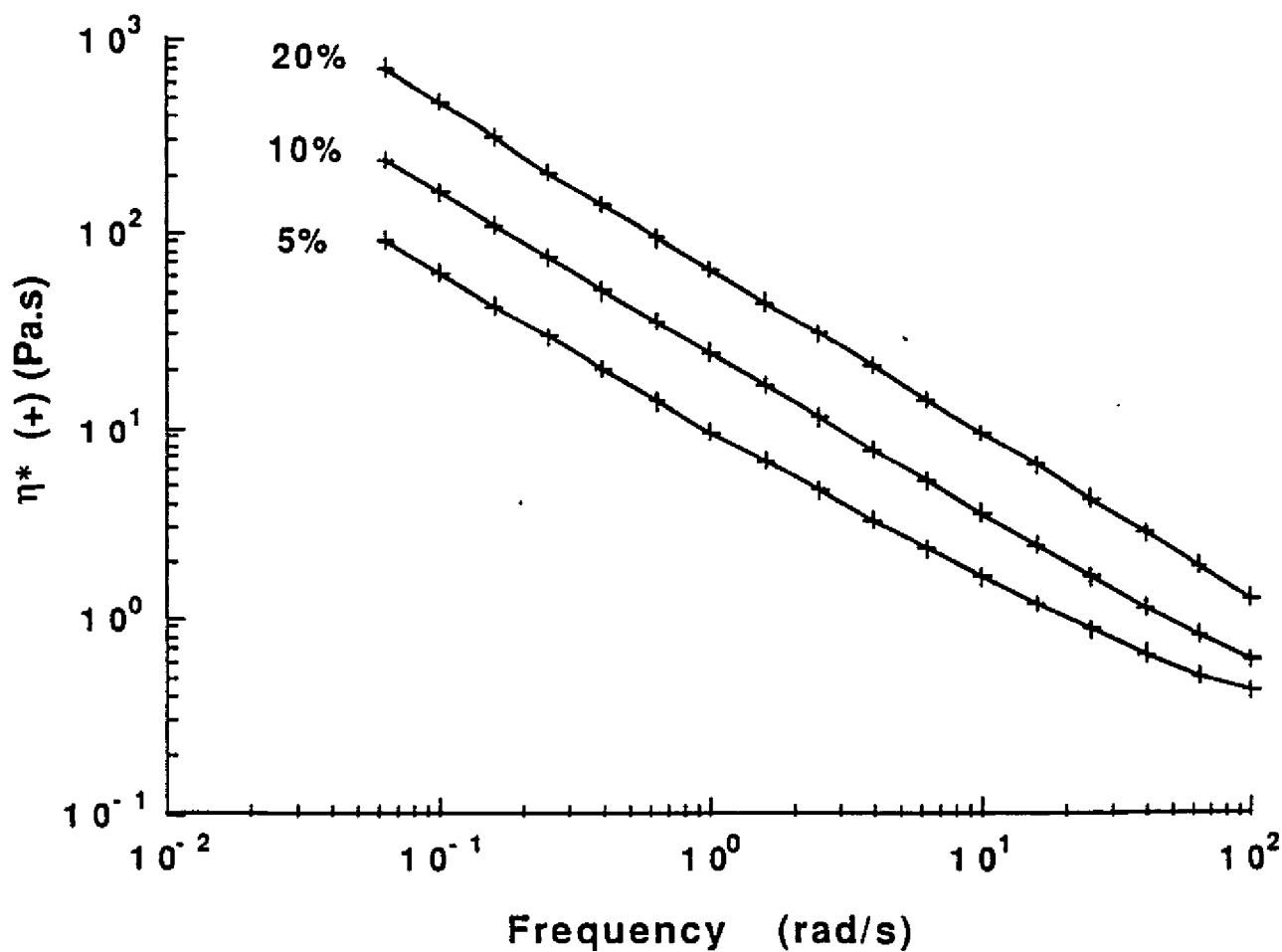


FIG. 9: Confronto tra viscosità dinamiche di formulazioni ACP/HA, 100/0 (ACP 20%, 10% e 5%, 0.5% H₂O)

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



Handwritten signature

Handwritten signature

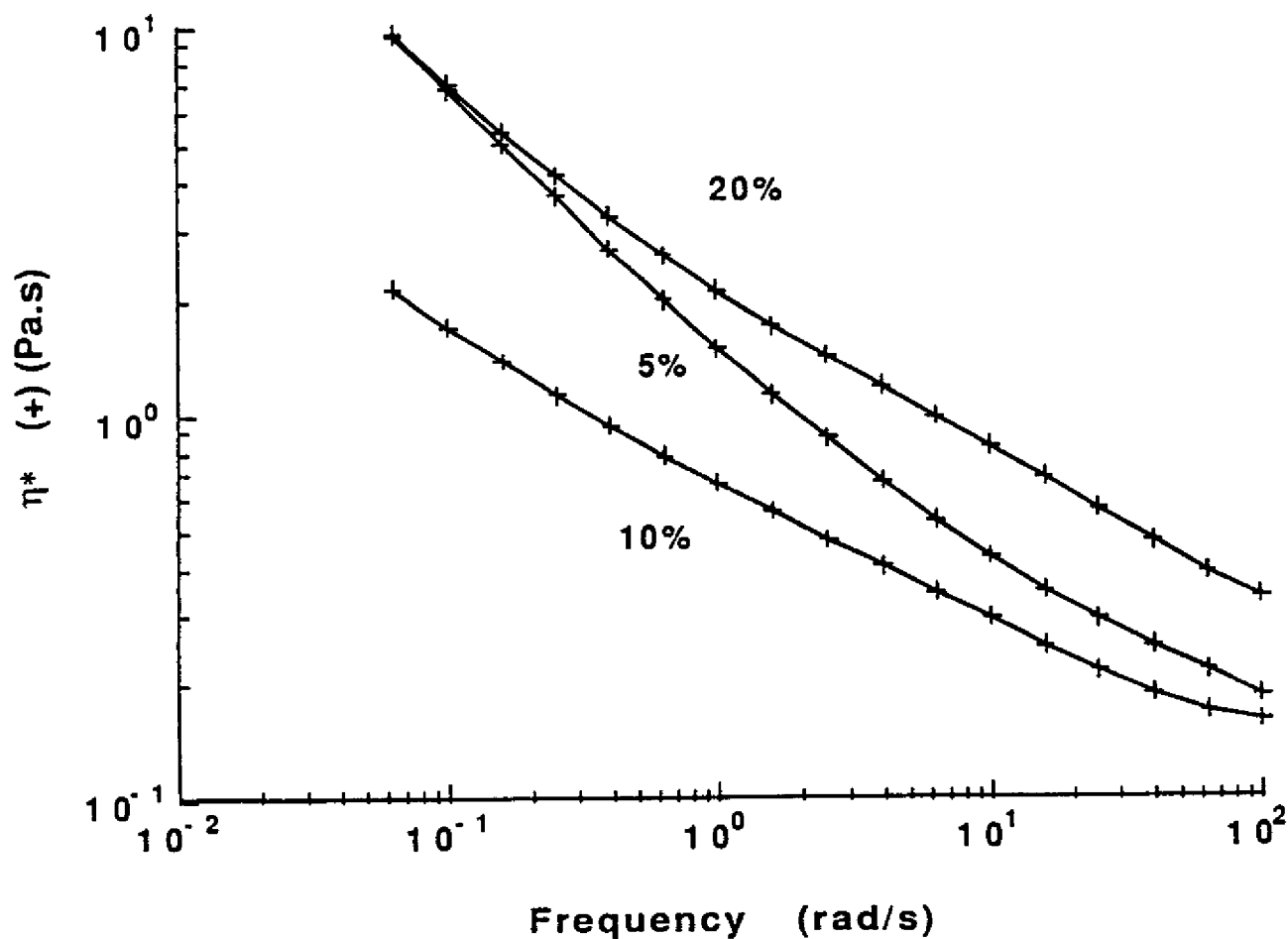
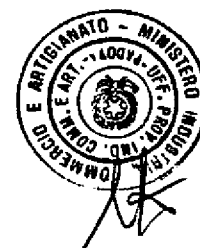


FIG. 10: Confronto tra viscosità dinamiche di formulazioni ACP/HA, 50/50 (ACP 20%, 10% e 5%, 0.5% H₂O)

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



PC

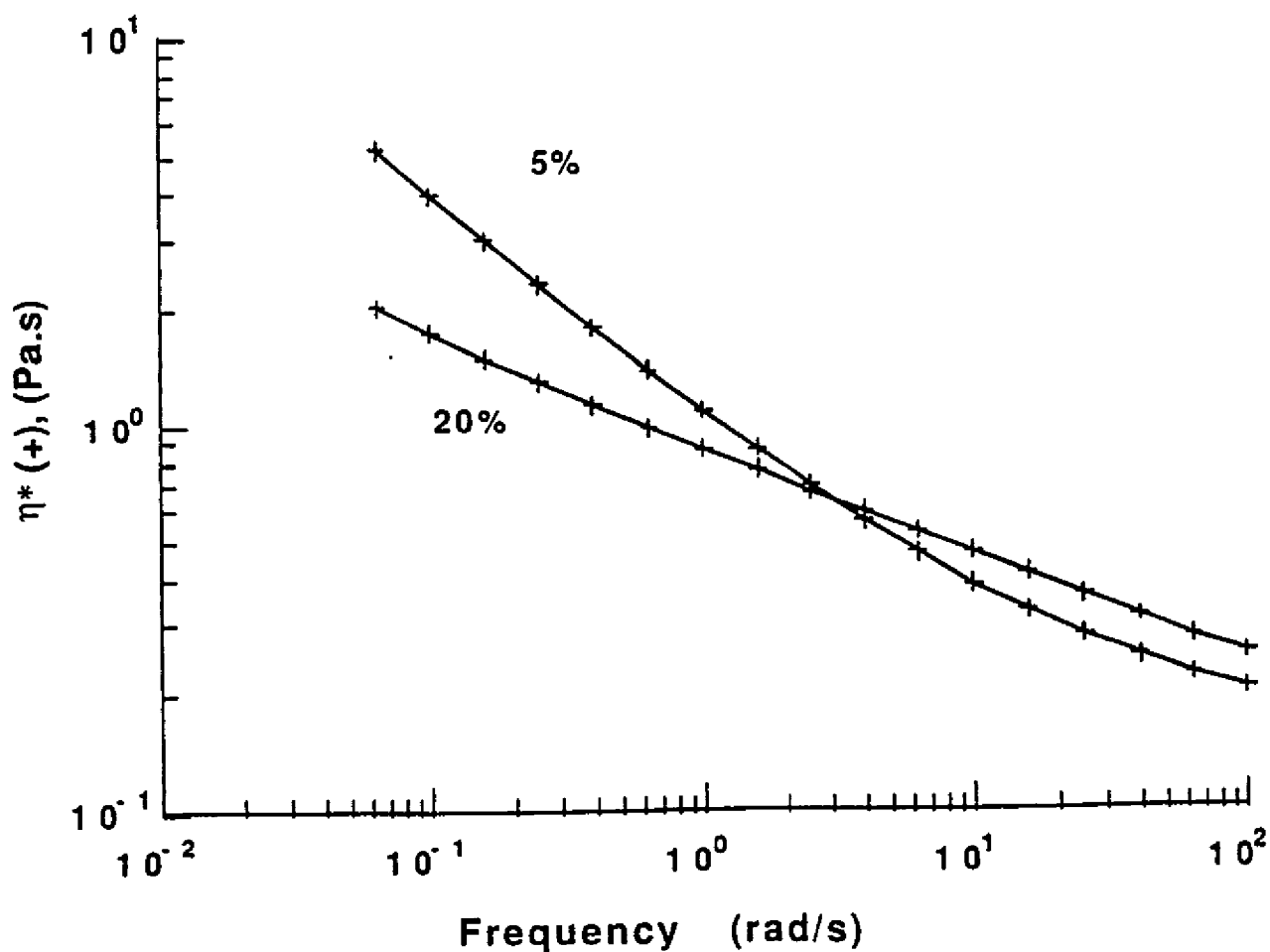


FIG. 11: Confronto tra viscosità dinamiche di formulazioni ACP/HA, 40/60 (ACP 20% e 5%, 0.5% H₂O)

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



AK

PM

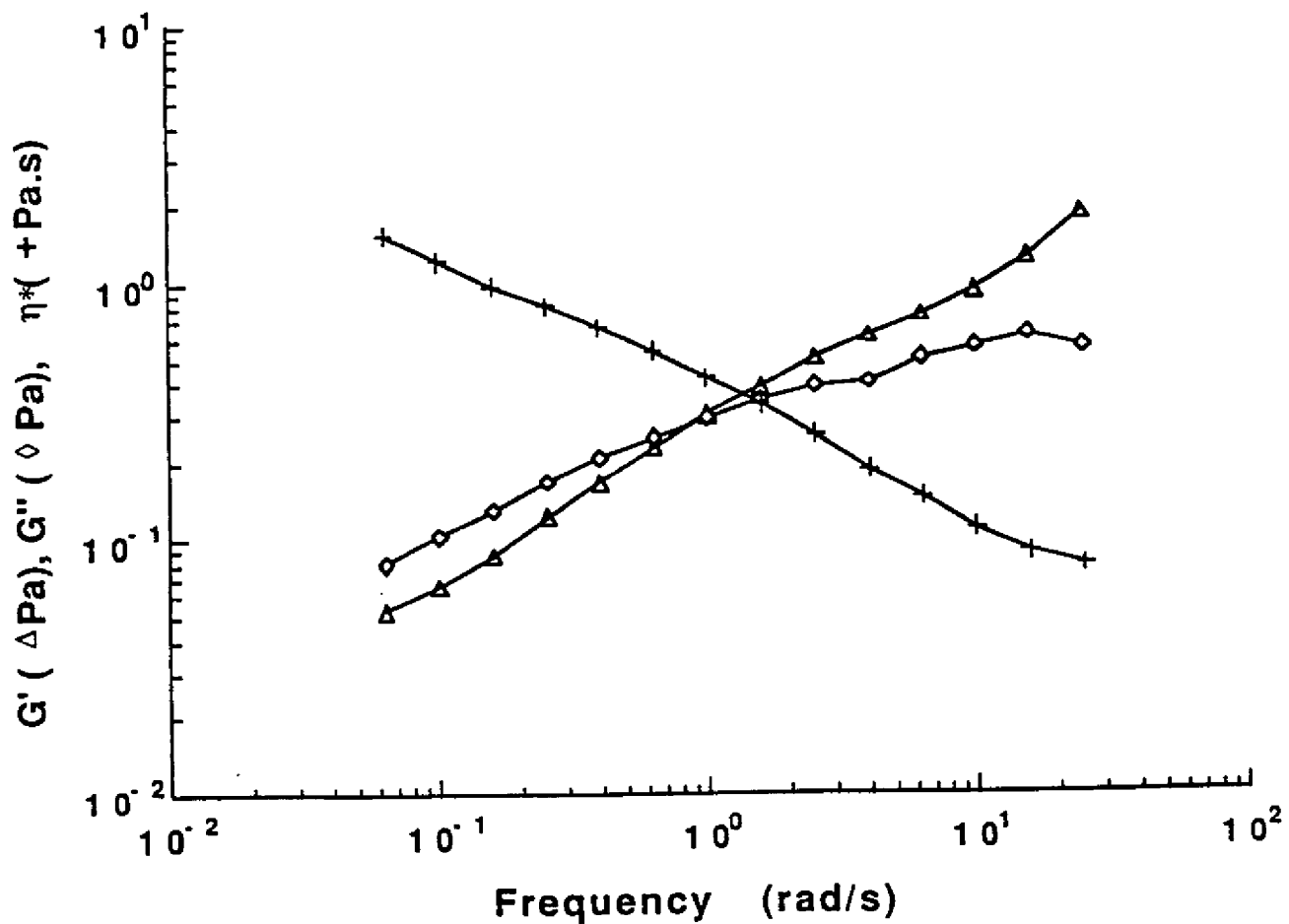
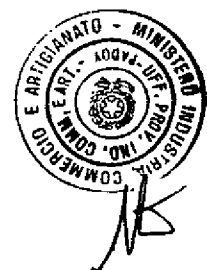


FIG. 12: Spettro viscoelastico di fluido sinoviale equino non osteoartritico

PD 9 6 A 0 0 0 1 6 3



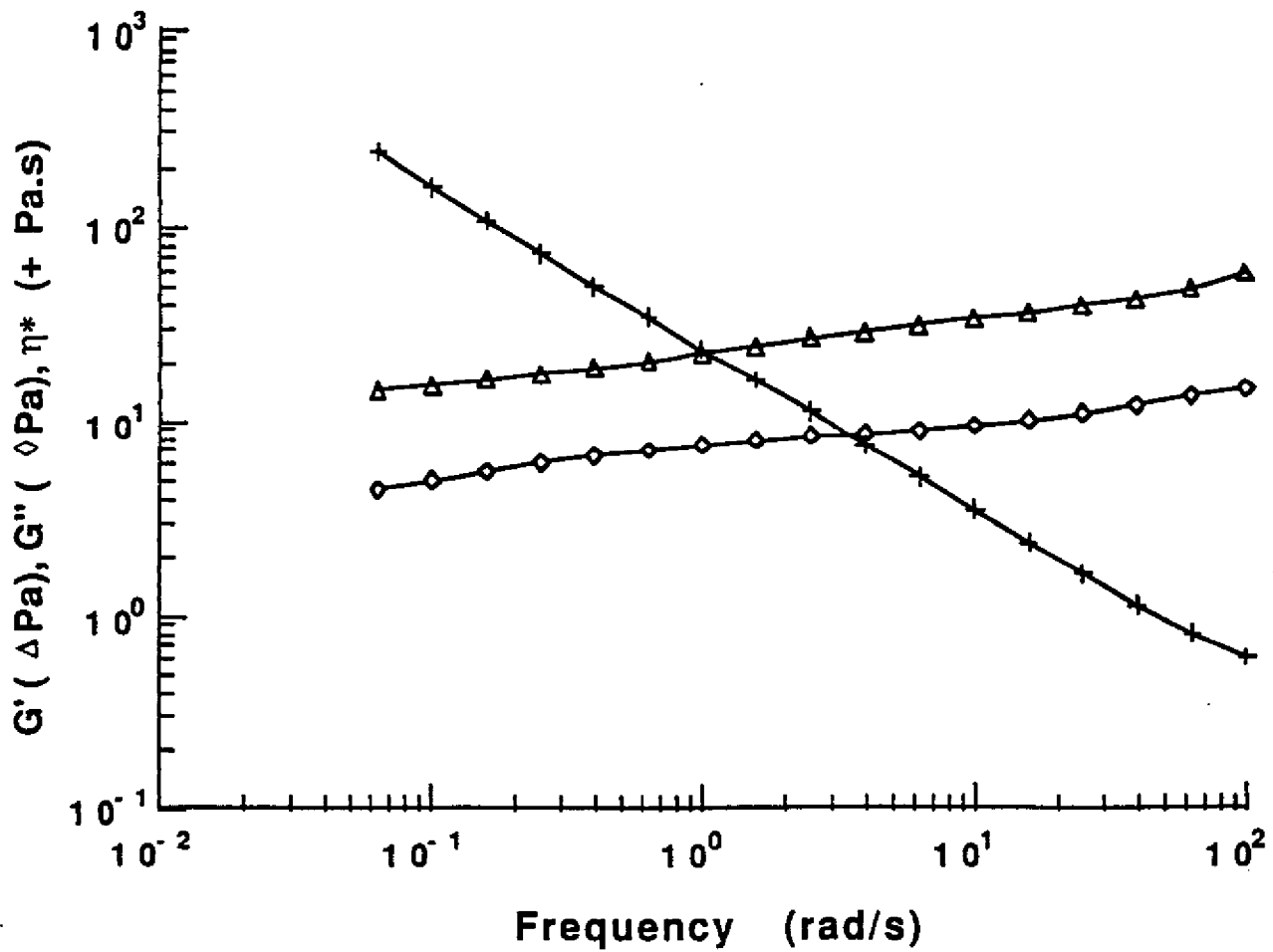


FIG. 13: Spettro viscoelastico di ACP/HA, 100/0 (ACP 10% 0.5% H₂O).

PD 96 A 000 163



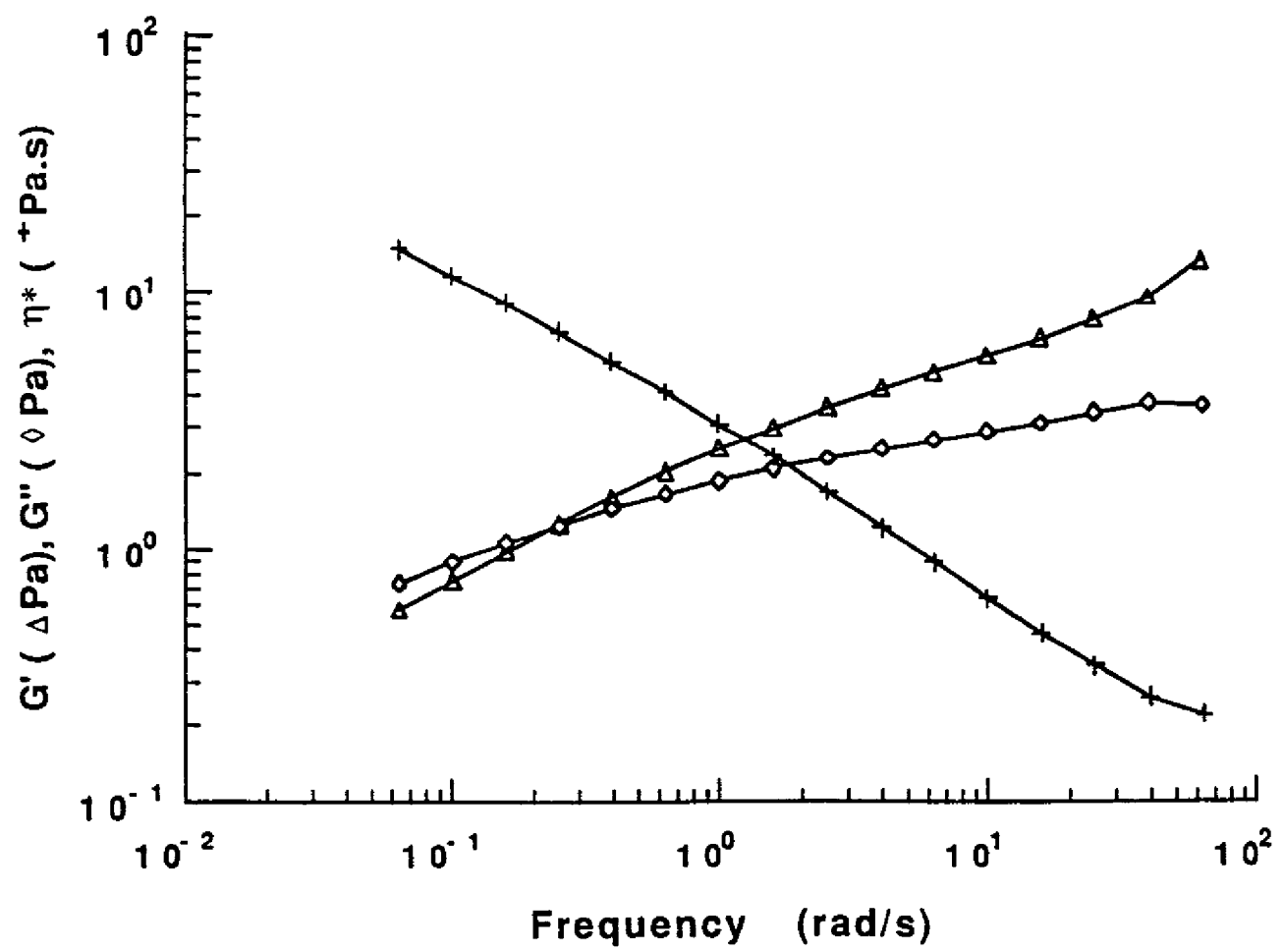
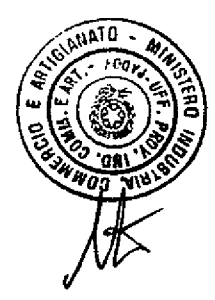


FIG. 14: Spettro viscoelastico di fluido sinoviale equino non osteoartitico addizionato di ACP 100/0, 10% 0.5% H2O, 3.3 mg/ml.

PD 96 A 000 163



By

- 37 -

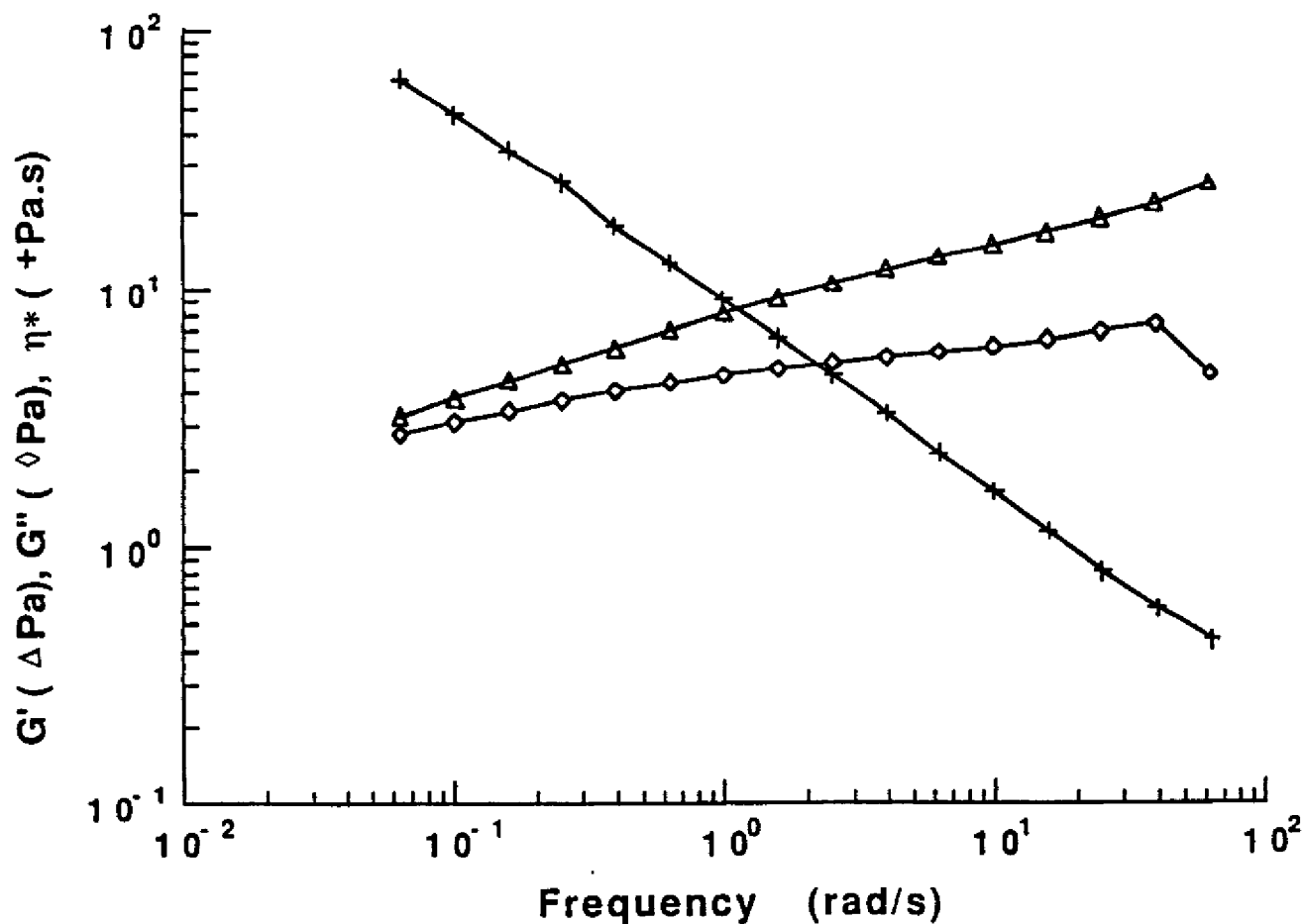


FIG. 15: Spettro viscoelastico di fluido sinoviale equino non osteoartitico addizionato di ACP 100/0, 10% 0.5% H₂O, 5.5 mg/ml.

PD 96 A 000 163

