



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

DOMANDA NUMERO	101999900766751
Data Deposito	14/06/1999
Data Pubblicazione	14/12/2000

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	B		

Titolo

COMPOSIZIONI FARMACEUTICHE COMPRENDENTI 8-CLORO-3 (BETA- DIETILAMINOETIL) -
4-METIL-7-ETOSSICARBONILMETOSSO CUMARINA BASE E RELATIVI SALI, AVENTI
ATTIVITA' IPOCOLESTEROLEMIZZANTE.

Descrizione di una invenzione industriale dal titolo "Composizioni farmaceutiche comprendenti 8-cloro-3(β -dietilaminoetil)-4-metil-7-etossicarbonilmetossi cumarina base e relativi sali, aventi attività ipocolesterolemizzante" della Fidia S.p.A., con sede in via Ponte della Fabbrica, 3A, Abano Terme, Padova, Italia, nella persona del suo Amministratore Delegato, Dott. Emilio Mauri.

Inventori designati: Bevilacqua Carla

Di Sante Giuseppe

Finesso Mario

Depositata il con No.

PD 99 A 000 128

OGGETTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce all'impiego del cloricromene (8-cloro-3(β -dietilaminoetil)-4-metil-7-etossicarbonilmetossi cumarina) base e relativi sali per la preparazione di composizioni farmaceutiche ad attività ipocolesterolemizzante.

CAMPO DELL'INVENZIONE

Le cumarine comprendono una vasta classe di sostanze fenoliche che si trovano nelle piante e sono costituite da un anello benzenico e uno di α -pirone fusi insieme.

Ad oggi sono state identificate almeno 1300 cumarine, principalmente come metaboliti di piante verdi, nei funghi e nei batteri.

Il cloricromene appartiene alla famiglia delle cumarine e viene preparato mediante il processo descritto nei brevetti della Richiedente US 4,296,039 e



US 4,452,811.

L'inserimento selettivo di un atomo di cloro in posizione 8 della cumarina conferisce alla molecola una proprietà vasodilatatoria coronarica, un'attività antiaritmica (US 4,349,566) ed antiaggregante piastrinica (US 4,302,741).

Gli effetti del cloricromene sono stati ampiamenti evidenziati in diversi modelli sperimentali. In particolare, è stato dimostrato che il prodotto è in grado di prevenire l'attivazione e l'aggregazione piastrinica indotta da stimoli, quali, ad esempio, quelli indotti dall'acido arachidonico, il collagene, l'ADP, l'adrenalina o il platelet activating factor (PAF) o da una combinazione di stimoli (Galli C. et al.: Effects of 8-monochloro-3- β -diethylaminoethyl-4-methyl-7-ethoxy carbonyl methoxy coumarin (AD6) on aggregation, arachidonic acid metabolism and thromboxane B2 formation in human platelets. Pharmacol. Res. Comun. 1980: 12: 329-337; Prosdocimi M. et al.: Action of AD6 (8-monochloro-3- β -diethylaminoethyl-4-methyl-7-ethoxy carbonyl methoxy coumarin) on human platelets in vitro. Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 1986: 332: 305-310; Travagli R. A. et al.: Molecular aspects of cloricromene (AD6) distribution in human platelets and its pharmacological effects. Thromb. Res. 1989: 54: 327-338). Inoltre è stato evidenziato che la potente azione inibitoria di AD6 a livello della produzione di acido arachidonico, precursore della sintesi del trombossano, avviene mediante un'azione bloccante a livello della fosfolipasi A2 (Porcellati S. et al.: The coumarin AD6 inhibits the release of arachidonic acid by interfering with phospholipase A2 activity in human platelets stimulated with thrombin. Agent



Actions 1990: 29: 364-373).

Il cloricromene è in grado di inibire molte funzioni cellulari dei leucociti polimorfonucleati (Bertocchi et al.: In vitro inhibition of human polymorphonuclear cell function by cloricromene. *Nauyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 1989: 339: 697-703) and Gresele et al. Cloricromene inhibits leukotriene formation by human polymorphonuclear leukocytes by suppressing arachidonate release from membrane phospholipids. *Biochemical Pharmacology* 1993: 45: 123-130). Inoltre, il prodotto può avere positivi effetti a livello delle interazioni biochimiche tra diverse specie cellulari, in particolare fra piastrine e leucociti polimorfonucleati (Zatta A. et al.: Polymorphonuclear leukocyte-dependent modulation of platelet function: effect of cloricromene. *Eur. J. Pharmacol.* 1991: 198: 97-100), che sono note essere rilevanti negli stati trombotici ed ischemici. E' stato documentato un effetto inibitorio del cloricromene anche a livello delle cellule monocitarie (Tranchina et al.: Inhibition of human monocyte adhesion to endothelial cells by the coumarin derivative, cloricromene. *British J. of Pharmacology* 1994: 111: 575-581).

Il cloricromene è in grado di ridurre la formazione del trombo laddove viene indotta una stenosi critica arteriosa (Prosdocimi M.: Stenosis and vascular damage as an experimental model of arterial thrombosis: a role for prostanoids. In: Samuelsson B. et al. eds. *Prostanoids and Drugs*. Plenum Publishing Corporation, 1989: 113-119; Prosdocimi M. et al.: Inhibition by AD6 monochloro-3- β -diethylamino-ethyl-4-methyl-7-ethoxycarbonyl-methoxy-cou-



marin of platelets aggregation in dog stenosed coronary artery, Thromb. Res. 1985: 39: 399-409). Il cloricromene ha inoltre un documentato effetto nei modelli di ischemia e riperfusione a livello di vari organi, in cui siano coinvolte anche citochine di tipo proinfiammatorio tra cui il TNF (Squadrito et al. Life Sciences 1993: 53: 341-355).

E' noto altresì l'uso del cloricromene nel trattamento di patologie caratterizzate da elevata produzione di ossido di azoto (brevetto della Richiedente No. IT 1265665).

Tuttavia, fino ad ora non è stato mai ipotizzato che il cloricromene potesse essere utilizzato come agente ipocolesterolemizzante. I dati di letteratura indicavano per un prodotto derivato cumarinico di origine vegetale un effetto ipocolesterolemizzante dimostrato su un unico modello sperimentale (Huang et al.: British Journal of Pharmacology 1993: 110: 1508-1514; Chen et al.: Morphological evidence for the antiatherogenic effect of scoparone in hyperlipidaemic diabetic rabbits. Cardiovascular Reserch 1994: 28: 1679-1685).

E' noto che valori plasmatici elevati di colesterolo totale o di colesterolo legato alle LDL (Low Density Lipoprotein) rappresentano un importante fattore di rischio di fenomeni arterosclerotici responsabili nella maggior parte dei casi di infarto del miocardio o cerebrale.

In particolare, quando i livelli di colesterolo plasmatico sono più alti di 220mg/dl, è stato osservato un marcato aumento nell'incidenza di infarto del miocardio.



Livelli di colesterolo elevati vengono riscontrati spesso anche in quei pazienti affetti da malattie vascolari causate, ad esempio, dall'età, dall'obesità, da disturbi cardiaci.

Il primo intervento nel trattamento di tutte le varietà di iperlipoproteinemie è quello di prescrivere una dieta che mantenga un normale peso corporeo e che diminuisca la concentrazione plasmatica dei lipidi.

Inoltre, gli individui dislipidemici devono ridurre al minimo tutti gli altri fattori di rischio che potrebbero accelerare il processo arterosclerotico e quindi curare l'ipertensione, tenere sotto controllo il livello ematico di glucosio nei diabetici, smettere di fumare e mantenere un buon livello di esercizio fisico.

Infine, la strategia terapeutica delle iperlipoproteinemie consiste nella somministrazione di farmaci in grado di ridurre la concentrazione plasmatica delle lipoproteine, riducendo la loro produzione o aumentando la loro eliminazione dal plasma.

Tra i farmaci che riducono le concentrazioni di lipoproteine plasmatiche ricordiamo l'acido nicotinico, il clofibrato, il gemfibrozil, il probucolo e le resine sequestranti gli acidi biliari, quali, la colestiramina e il colestipolo, e le simvastatine.

Sfortunatamente i suddetti farmaci provocano vari effetti collaterali quali, ad esempio, vampate intense, prurito, ulcera peptica, iperpigmentazione cutanea, nausea, vomito, perdita dei capelli, debolezza, impotenza, disturbi gastrointestinali. Diversamente da questi, il cloricromene può essere somministrato anche per tempi prolungati senza provocare effetti collaterali.



Infine, non esistono dati di tollerabilità a supporto dell'utilizzo dello scoparone nella terapia ipocolesterolemizzante nell'uomo, poiché la molecola non è stata valutata in studi clinici di alcun genere.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

E' stato sorprendentemente trovato che il cloricromene è in grado di ridurre i livelli di colesterolo nel sangue e pertanto può essere vantaggiosamente impiegato per la preparazione di composizioni farmaceutiche ad azione ipocolesterolemizzante.

Tale attività risulta particolarmente spiccata nei pazienti affetti da malattie vascolari e/o con livelli di colesterolo maggiori di 190 mg/dl.

Le composizioni farmaceutiche possono essere in forma di compresse, capsule, soluzioni iniettabili, sistemi a rilascio controllato, sistemi transdermici.

TEST DI CONFRONTO SULLA TOLLERABILITA' DEL CLORICROMENE E DELLO SCOPARONE IN UN MODELLO DI IPERCOLESTEROLEMIA DIABETICA NEL CONIGLIO.

E' stato effettuato un esperimento preliminare al fine di valutare la capacità del Cloricromene di ridurre i livelli plasmatici di colesterolo e trigliceridi in conigli sottoposti a dieta ipercolesterolemica trattati cronicamente per un periodo di 4-5 settimane. Come prodotto di confronto è stato utilizzato lo scoparone in quanto l'unico derivato cumarinico di origine vegetale con documentato effetto su questi parametri.

Il modello sperimentale prevedeva l'induzione di elevati livelli plasmatici di



colesterolo e trigliceridi mediante dieta arricchita in colesterolo all'1% e contemporanea induzione di patologia diabetica mediante iniezione di allossana, prodotto ad elevata tossicità per le cellule β del pancreas. In questo modo è possibile raggiungere molto rapidamente valori sistemici di colesterolo e trigliceridi molto elevati. Il peso corporeo degli animali e i livelli plasmatici dei parametri in studio venivano valutati a cadenza settimanale per tutta la durata della sperimentazione. I risultati di questa sperimentazione preliminare indicano che il gruppo di conigli trattati con cloricromene mantengono una curva di accrescimento del peso corporeo sovrapponibile a quella del gruppo di animali di controllo, cioè con patologia diabetico-ipercolesterolemica e privi di alcun trattamento farmacologico. Al contrario, nel gruppo di animali trattati con scoparone si è osservato una sensibile e progressiva riduzione del peso corporeo degli animali, sicuro indice di scarsa tollerabilità del trattamento farmacologico. Anche i livelli plasmatici di colesterolo e trigliceridi nel gruppo trattato con cloricromene sembrano tendenzialmente più ridotti rispetto al gruppo di animali trattati con scoparone.

EFFETTO IPOCOLESTEROLEMIZZANTE DEL CLORICROMENE

E' stato eseguito uno studio clinico multicentrico in doppio cieco randomizzato controllato verso placebo su 159 pazienti affetti da arteriopatia obliterante cronica periferica. Successivamente è stata effettuata un'analisi su un sottogruppo di 117 pazienti aventi un valore basale di colesterolo maggiore di 190 mg/dl.



Il valore critico 190 mg/dl è stato scelto in virtù dei dati di letteratura internazionale che riportano tale valore come ottimale per prevenire patologie come l'ischemia cardiaca e l'aterosclerosi in generale in cui l'eccesso di colesterolo rappresenta un vero e proprio fattore di rischio. Quindi, i pazienti che hanno evidenziato valori di colesterolo maggiori o uguali a 190 mg/dl sono stati considerati a rischio per le patologie suddette.

Da questa analisi è emerso che 58 pazienti sono stati trattati per 6 mesi con 200 mg di cloricromene al giorno (capsule da 100 mg per due volte al giorno), mentre i restanti 59 pazienti sono stati trattati con placebo (Tabella 1).

Tabella 1

Gruppi	Livelli di colesterolo alla settimana 0	Livelli di colesterolo alla 24° settimana	p
Gruppo trattato con cloricromene	243±31	229±32	p=0,0035
Gruppo Placebo	234±30	234±39	P=NS

NS = non significativo

Dall'analisi della covarianza, la stima della differenza tra i gruppi di trattamento risulta essere statisticamente significativa a favore del gruppo trattato con cloricromene (p=0,04, con un valore $\alpha=0,05$).

ESEMPI DI FORMULAZIONE

Capsule

Cloricromene 100 mg



Saccarosio	92,77 mg
Maize amide	30,93 mg
Magnesium Stearate	34,6 mg
Povidone	25,48 mg
Fosfato di Potassio mobasico	20,8 mg
Cellulosa acetato	95,42 mg
Gelatina Container	77 mg

Composizione iniettabile

Cloricromene cloridrato	30 mg
Mannitolo	30 mg
Sodio cloruro	45 mg
Acqua iniettabile	5 ml

Essendo le formulazioni così descritte in dettaglio, è ovvio che esse possono essere modificate in diversi modi. Tali modificazioni non sono da considerarsi variazioni rispetto allo spirito ed allo scopo della presente invenzione e tutte quelle modifiche che possono essere ovvie per un esperto nello specifico settore sono da considerarsi incluse nello scopo delle seguenti rivendicazioni.



RIVENDICAZIONI

- 1) Composizioni farmaceutiche contenenti cloricromene base o un suo sale per ridurre i livelli di colesterolo in pazienti affetti da ipercolesterolemia.
- 2) Uso del cloricromene base e relativi sali per la preparazione di composizioni farmaceutiche ad attività ipocolesterolemizzante.
- 3) Uso del cloricromene base e relativi sali per la preparazione di composizioni farmaceutiche ad attività ipocolesterolemizzante in pazienti aventi livelli plasmatici di colesterolo superiori a 190 mg/dl.
- 4) Uso secondo le rivendicazioni 1 e 2, in cui le composizioni farmaceutiche sono in forma di capsule, compresse, soluzioni iniettabili, sistemi di rilascio controllato, sistemi transdermici.
- 5) Uso secondo le rivendicazioni precedenti, in cui il sale del cloricromene è l'idrocloruro di sodio.


Emilio Mauri
Amministratore Delegato
Fidia S.p.A.

