



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

DOMANDA NUMERO	102001900936315
Data Deposito	12/06/2001
Data Pubblicazione	12/12/2002

Titolo

USO DELLA YOHIMBINA PER LA PREPARAZIONE DI FARMACI AD ATTIVITA'
IMMUNOBIOLOGICA.

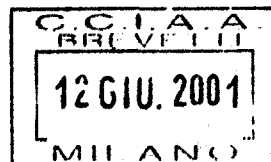
Descrizione dell'Invenzione Industriale dal titolo:

"Uso della yohimbina per la preparazione di farmaci ad attività immunobiologica"

a nome di LEONE ENZO

residente in MILANO

Inventore designato: LEONE Enzo



CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda l'impiego della yohimbina per la preparazione di farmaci ad attività immunobiologica, quali vaccini, sieri, immunotossine, antigeni, immunoglobuline e preparati di immunoglobuline.

TECNICA ANTERIORE

La yohimbina ($C_{21}H_{26}N_2O_3$, 17-alfa-idrossi-20-alfa-yohimban-16-beta-carbossilato di metile, p.f. 243-244°C) è un alcaloide indolalchilamminico, contenuto nella corteccia di *Pausinystalia Yohimba*, albero appartenente alla famiglia delle Rubiacee, nella corteccia di *Corynanthe Yohimba* e di *Pseudocinchona Yohimba* e nella radice di *Rauwolfia Serpentina*, dal cui estratto alcolico è stata isolata assieme ad altri alcaloidi simili per costituzione chimica (Chatterjee, Experientia, Vol. X/6 246-247 (1954)). L'impiego della yohimbina come farmaco è noto sin dal secolo scorso sia come vasodilatatore che, ad alte dosi, come vasocostrittore. E' stato inoltre rilevato e descritto l'impiego della yohimbina come agente antivirale e quale principio attivo nelle composizioni terapeutiche ad attività antivirale

come riportato nella domanda di brevetto europeo EP 1 086 695 a nome del Richiedente e qui incorporata per riferimento.

SOMMARIO

Inaspettatamente e sorprendentemente è stato ora scoperto che la yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, possiede proprietà immunizzanti stimolando ed inducendo un innalzamento della risposta anticorpale nei soggetti trattati con detta sostanza.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

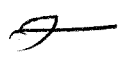
Costituisce pertanto un oggetto della presente invenzione l'utilizzo della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, nella preparazione di farmaci ad attività immunobiologica, in particolare vaccini, sieri, immunotossine, antigeni e immunoglobuline.

Ulteriore oggetto della presente invenzione è l'uso della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, nella preparazione di farmaci per la stimolazione della risposta immunitaria, in particolare per la prevenzione e/o il trattamento di malattie di natura virale, oncologica autoimmune e allergica.

L'azione immunizzante della yohimbina si esplica tramite la stimolazione delle cellule deputate alla risposta immunitaria, cellule quali ad esempio linfociti T, linfociti B, cellule dendritiche.

L'utilizzo della yohimbina, alla base della presente invenzione, prevede, come elemento innovativo e determinante un miglioramento della qualità del prodotto finale, un pretrattamento con YOHIMBINA in tutte le sue

forme isomere e/o i suoi sali farmacologicamente accettabili o loro miscele.

La dose varia in funzione della patologia che si intende trattare con uno specifico immunoderivato, ed è compresa in un intervallo di 0,1-5 mg/Kg, 
suddivisibili in due o più somministrazioni in funzione della patologia stessa e dell'individuo sottoposto a trattamento.

Anche la durata del pretrattamento è variabile, con un minimo di otto giorni, e si può stabilire monitorando il dosaggio delle immunoglobuline (Ig) nel siero.

VACCINI

L'utilizzo di YOHIMBINA per l'iperimmunizzazione dei soggetti donatori è alla base della nuova metodica estrattiva di sieri attivi contro specifiche infezioni, con i quali sarà poi possibile preparare vaccini antivirali, specifici per ogni individuo e per ogni patologia.

Infatti, il trattamento con YOHIMBINA induce un innalzamento della risposta immunitaria attraverso la stimolazione alla migrazione delle cellule presentanti gli antigeni nei linfonodi. Anche la risposta degli elementi immaturi del midollo osseo è nel senso di un aumento della loro attività.

La memoria immunologica così modificata comporta la generazione di popolazioni linfocitarie Ag specifiche con caratteristiche tali da poter essere modificate e selezionate, e quindi utilizzate nell'immunizzazione passiva o per la inattivazione di virus (anche oncogeni) e per la produzione di vaccini specifici.

L'infezione con un ceppo virale, sarà via via attenuata attraverso

passaggi in animali pretrattati con YOHIMBINA, fino ad ottenere, applicando principi analoghi a quelli enunciati da Pasteur, il cosiddetto *virus fisso*, la cui infezione permette di ottenere il vaccino dalle parti dell'animale verso cui il virus esplica il suo tropismo (p.es., il midollo spinale).

SIERI

Soluzioni purificate di immunoglobuline presenti nel siero di soggetti immunizzati dalle patologie infettive (convalescenti), sono utilizzate nell'immunizzazione passiva. Questa immunizzazione è transitoria e può essere di due tipi, *omologa* o *eterologa*, in relazione alla specie di appartenenza dell'accettore e del donatore.

L'immunizzazione passiva appare perciò idonea a fornire una protezione immediata dagli effetti dannosi di tossine e microrganismi, quando la situazione non consenta di attendere l'insorgenza della risposta anticorpale attiva, di solito lenta.

L'utilizzo di YOHIMBINA per l'iperimmunizzazione dei soggetti donatori, è alla base della nuova metodica estrattiva di sieri contro specifiche infezioni, specifici per individuo e per patologia.

Infatti, il trattamento con YOHIMBINA induce un innalzamento della risposta immunitaria attraverso la stimolazione della migrazione nei linfonodi delle cellule dendritiche presentanti l'antigene, come anche la risposta degli elementi immaturi del midollo osseo è nel senso di un aumento della loro attività.

TOSSINE

Per aumentare la citotossicità degli anticorpi, questi possono essere

coniugati a citotossine; questi composti prendono il nome di *immunotossine*. Le tossine più usate sono la ricina, l'esotossina dello *Pseudomonas* e la tossina difterica. Queste, se coniugate con anticorpi diretti verso le cellule bersaglio, diventano specifici uccidendo solo le cellule verso cui gli Ab sono indirizzati. Gli anticorpi stimolati dal trattamento con YOHIMBINA, sono qualitativamente più efficaci e specifici. La loro selezione, inoltre, è meno difficile dal punto di vista della manipolazione dell'immunogenicità sia dell'Ab che della catena tossica. Pertanto, è anche prevedibile una minore epatotossicità, nel momento in cui questi coniugati vengono rimossi.

ANTIGENI

Sono stati selezionati, *in vivo* e *in vitro*, antigeni del basalioma e dell'epidermide (a scopo di trapianto) in grado di determinare rispettivamente il rigetto e l'attecchimento, grazie a coltivazioni cellulari di tessuti prelevati da individui pretrattati con YOHIMBINA.

Coltivazioni cellulari di tessuti prelevati da individui pretrattati con YOHIMBINA, sono purificate, per ottenere tessuti che attecchiscono anche in organismi non compatibili.

Altro oggetto della presente invenzione e' l'uso della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, per la preparazione d'antigeni, in particolare, antigeni per il trattamento anti-tumorale o per il trattamento anti-rigetto. Ulteriore oggetto della presente invenzione e' l'uso della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, per la coltivazione cellulare di tessuti per trapianto omologo o

eterologo.

IMMUNOGLOBULINE E PREPARATI DI IMMUNOGLOBULINE

La metodica è simile a quella per la preparazione dei sieri e trova applicazione nelle cosiddette *agammaglobulinemie*, in cui si osserva una deficienza o assenza d'immunoglobuline (Ig) normali, con o senza la presenza di Ig patologiche di *compensazione*.

In generale, a causa di un difetto genetico, si verifica un arresto nella maturazione dei tessuti linfoidei allo stadio dello sviluppo del timo epiteliale e il soggetto non è in grado di produrre risposte immunitarie sia di tipo immediato che ritardato.

L'immunizzazione adottiva cellulomediata, prevede il trasferimento al soggetto agammaglobulinemico di cellule linfoidei, da un donatore che sia stato immunizzato, per esempio con un vaccino. Nel caso di un pretrattamento con YOHIMBINA, il donatore acquisisce un patrimonio immunologico sia qualitativamente che quantitativamente superiore ad altri individui non trattati. Con autotrapianti o utilizzando linfociti che non determinino rigetto da parte dell'accettore, si può ricostituire un sistema immunitario almeno parzialmente efficace.

L'utilizzo di YOHIMBINA nel trattamento di malattie virali quali l'Herpes, è stato oggetto di uno studio clinico. Da questo sono risultate evidenze sperimentali dell'utilizzo della yohimbina nella preparazione e produzione a livello industriale di farmaci ad attività immunobiologica.

Questi effetti sono responsabili dell'innalzamento della risposta immunitaria in corso di infezioni virali e di tumori, e del conseguente miglioramento nella risposta clinica. In corso, per esempio, di infezione

da Herpes Simplex Virus (HSV), è stata osservata una riduzione del numero delle recidive che potrebbe essere attribuita ad una maggior stabilizzazione della risposta anticorpale; quindi, a fronte di un evento scatenante (agenti fisici come la luce solare) o della diminuzione della risposta immunitaria, invece della migrazione dei virus verso l'area di maggior risentimento e la conseguente lesione cutanea, si ha il persistere di un adeguato titolo anticorpale, sufficiente a controllarne la replicazione.

I vantaggi di questa metodica consistono:

- Nella specificità della risposta anticorpale ottenuta, e nelle sue caratteristiche qualitativamente differenti.
- Nel costo contenuto di questo tipo di metodica e nella sua relativa semplicità applicativa.
- Nella possibilità di utilizzarla anche in patologie di tipo proliferativo o autoimmune, selezionando il tipo di linfocita da clonare.

RIVENDICAZIONI

1. Uso della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, nella preparazione di farmaci ad attività immunobiologica.
2. Uso secondo la rivendicazione 1 nella preparazione di farmaci per la stimolazione della risposta immunitaria.
3. Uso secondo la rivendicazione 1 in cui i farmaci ad attività immunobiologica sono scelti dal gruppo consistente di: vaccini, sieri, immunotossine, antigeni e immunoglobuline.
4. Uso della yohimbina, in tutte le sue forme isomere e/o i loro sali farmaceuticamente accettabili o loro miscele, per la coltivazione cellulare di tessuti per trapianto omologo o eterologo.

 (EF/pd)

Milano, li 12 Giugno 2001

p. LEONE Enzo

Il Mandatario


Dr.ssa Gemma Gervasi

NOTARBARTOLO & GERVASI S.p.A.

