

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 554 332**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/416** (2006.01)

**A61P 17/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.06.2010** **E 10728191 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.10.2015** **EP 2451452**

54 Título: **Utilización de la bencidamina en el tratamiento de las enfermedades dependientes de p40**

30 Prioridad:

**08.07.2009 EP 09425270**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**18.12.2015**

73 Titular/es:

**AZIENDE CHIMICHE RIUNITE ANGELINI  
FRANCESCO A.C.R.A.F. S.P.A. (100.0%)  
Viale Amelia, 70  
00181 Roma, IT**

72 Inventor/es:

**GUGLIELMOTTI, ANGELO;  
MANGANO, GIORGINA y  
BIONDI, GIUSEPPE**

74 Agente/Representante:

**CURELL AGUILÁ, Mireia**

**ES 2 554 332 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Utilización de la bencidamina en el tratamiento de las enfermedades dependientes de p40.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere la utilización de bencidamina en el tratamiento de enfermedades dependientes de p40.

10 Más particularmente, la presente invención se refiere a la utilización de bencidamina en el tratamiento de enfermedades inflamatorias causadas por una expresión o sobreexpresión de la subunidad p40 de citocina.

**Antecedentes de la invención**

15 La bencidamina (The Merck Index, 9ª ed., 1976, página 147, nº 1136) se describió por primera vez en la patente US nº 3.318.905, que se refiere a un grupo de sustancias con actividad analgésica, antiinflamatoria y relajante muscular.

20 La bencidamina ha sido ampliamente utilizada en forma de clorhidrato en tratamientos para humanos. Por vía sistémica, se utiliza principalmente como antiflogístico y analgésico. Por vía tópica, en cambio, se utiliza principalmente para las enfermedades que comprenden inflamación local, tales como, por ejemplo, mialgia, tendinitis, vulvovaginitis, gingivitis, estomatitis, mucositis de la cavidad bucal, etcétera. Además, se ha utilizado el salicilato de bencidamina en enfermedades reumáticas.

25 El documento EP 195749 da a conocer la utilización de bencidamina en el tratamiento de las infecciones por *Trichomonas vaginalis* y *Gardnerella vaginalis*. El *Trichomonas vaginalis* es un protozoo que provoca infecciones del tracto genitourinario en hombres y mujeres. El *Gardnerella vaginalis* es un bacilo pequeño, gramvariable, pleomorfo, que forma colonias de 0,25-0,44 mm de diámetro.

30 El documento EP 812193 da a conocer una composición farmacéutica que comprende una cantidad antiinflamatoria de bencidamina y una cantidad antimicrobianamente eficaz de un agente antimicrobiano. La combinación de la bencidamina con un agente antimicrobiano aumenta la actividad del agente antimicrobiano sin afectar a la actividad de la bencidamina, de modo que se obtiene un tratamiento antiséptico, antiinflamatorio y analgésico eficaz para las infecciones microbianas, especialmente de las encías, la boca y la garganta.

35 La patente US nº 5932589 da a conocer una composición farmacéutica oral antitusiva que permite un contacto significativo de sus componentes con las membranas mucosas de la cavidad bucal y que comprende un antitusivo de acción central y bencidamina. La bencidamina ha demostrado ser capaz de acortar el tiempo de inicio de la acción de los antitusivos de acción central sobre el estímulo periférico de la tos en determinadas patologías, en comparación con el antitusivo solo.

40 La patente US nº 6300358 da a conocer la utilización de bencidamina para preparar un medicamento para el tratamiento de estados patológicos causados por el TNF, un polipéptido no glucosilado también conocido como TNF alfa o caquectina. El TNF pertenece a la familia de las citocinas y, como tal, participa en la estimulación de respuestas inmunitarias para defender el organismo de ataques externos. Por otro lado, una acción excesiva del TNF puede convertirse en sí misma en una causa patógena, dada la considerable toxicidad del TNF. Entre los ejemplos típicos de los estados patológicos causados por el TNF, de los que se ha afirmado que resultan beneficiados por el tratamiento con bencidamina, se incluyen el choque séptico, la caquexia, las infecciones virales o bacterianas crónicas, como la tuberculosis o el SIDA, o las enfermedades degenerativas, tales como la esclerosis múltiple o la colitis ulcerosa.

45 Sin embargo, la acción de la bencidamina se realiza, con respecto al TNF, a dosis superiores a las administradas para lograr un efecto antiinflamatorio. Posteriormente, se ha documentado que son necesarias dosis de 20 mg/kg y de hasta 40 mg/kg en ratones para alcanzar un efecto inhibitorio significativo sobre la producción de TNF (M. Sironi y otros, "Inhibition of inflammatory cytokine production and protection against endotoxin toxicity by bencidamine", Cytokine, volumen 8, número 9, septiembre de 1996, páginas 710-716 y A. Guglielmotti y otros, "Benzidamine protection in a mouse model of endotoxemia", Journal Inflammation Research, volumen 46, número 9, septiembre de 1997, páginas 332-335).

60 Recientemente, se ha desarrollado y probado clínicamente la utilización de compuestos capaces de interferir con el TNF, tales como etanercept, infliximab y adalimumab, para el tratamiento de la enfermedad de Crohn, la artritis reumatoide, la artritis psoriásica, la psoriasis y la espondilitis anquilosante.

65 Sin embargo, la utilización de compuestos que pueden interferir con el TNF, aunque por diferentes mecanismos, ha resultado bastante limitada por cuestiones de seguridad. De hecho, debido al papel clave del TNF en la actividad inmunitaria, los ensayos clínicos y la práctica clínica han demostrado que la utilización de agentes anti-TNF está

asociada a menudo con la aparición de las típicas secuelas de la inmunosupresión, tales como infecciones, tumores malignos o trastornos autoinmunitarios.

5 Aún más recientemente, diversos trabajos científicos han indicado que la subunidad p40 de citocina puede desempeñar un papel fundamental en la patogénesis de la psoriasis (M. Cargill, "A large-scale genetic association study confirms IL12B and leads to the identification of IL23R as psoriasis-risk genes", American journal of human genetics, vol. 80, número 2, pág. 273-90, febrero de 2007).

10 La subunidad p40 de citocina es un componente de la interleucina-12 (IL-12) y la interleucina-23 (IL-23). La subunidad p40 de citocina se une a la subunidad p35 de citocina a través de un enlace disulfuro para formar la IL-12, y de la subunidad p19 de citocina para formar la IL-23. La IL-12 y la IL-23 son miembros de una pequeña familia de citocinas proinflamatorias heterodiméricas. El receptor de la IL-12 está constituido por las subunidades IL-12R $\beta$ 1 e IL-12R $\beta$ 2, mientras que el receptor de la IL-23 está constituido por las subunidades IL-12R $\beta$ 1 e IL-23R.

15 La IL-12 y la IL-23 están expresadas principalmente por células dendríticas activadas y por los fagocitos. Los receptores para las dos citocinas se expresan en las células T y NK, y en las células NK T, pero también están presentes niveles bajos de complejos del receptor de la IL-23 en los monocitos, los macrófagos y las células dendríticas.

20 A pesar de estas similitudes, hay muchas evidencias que sugieren que la IL-12 y la IL-23 controlan diferentes circuitos inmunitarios. De hecho, mientras que la IL-12 controla el desarrollo de las células Th1, capaces de producir interferón gamma (IFN- $\gamma$ ), y aumenta la respuesta citotóxica, antimicrobiana y antitumoral, la IL-23 regula un circuito que conduce a la generación de células CD4+, capaces de producir IL-17. La inducción de procesos dependientes de la IL-23 conduce a la movilización de diversos tipos de células inflamatorias, por ejemplo, las células TH-17, y se ha demostrado que es crucial para la patogénesis de numerosas patologías inflamatorias mediadas por respuestas inmunitarias.

30 Entre los ejemplos típicos de patologías asociadas con la expresión de p40 se incluyen enfermedades inflamatorias crónicas del sistema articular (por ejemplo, la artritis reumatoide), del sistema dérmico (por ejemplo, la psoriasis) y del aparato digestivo (por ejemplo, la enfermedad de Crohn). Sin embargo, la IL-23 también desempeña un papel en la promoción de la incidencia y el crecimiento tumorales. De hecho, la IL-23 regula una serie de circuitos en el microambiente tumoral que estimulan la angiogénesis y la producción de mediadores inflamatorios.

35 La psoriasis es una enfermedad inflamatoria crónica de la piel que afecta al 3% de la población mundial (Koo J., Dermatol. Clin. 1996; 14:485-96; Schon M.P. y otros, N. Engl. J. Med. 2005; 352: 1899-912). Se ha correlacionado una respuesta inmunitaria aberrante de tipo 1 con la patogénesis de la psoriasis, y las citocinas que inducen esta respuesta, tales como la IL-12 y la IL-23, pueden representar objetos terapéuticos adecuados. La expresión de IL-12 e IL-23, que comparten la subunidad p40, está significativamente aumentada en las placas de psoriasis, y los estudios preclínicos han demostrado que estas citocinas participan en la patogénesis de la psoriasis. Más recientemente, el tratamiento con anticuerpos monoclonales anti-IL-12 y anti-IL-23 de pacientes afectados de psoriasis ha demostrado ser eficaz en la mejora de los signos de progresión y gravedad de la enfermedad, lo que ha reforzado el papel de la IL-12 y la IL-23 en la fisiopatología de la psoriasis.

45 La enfermedad de Crohn es una patología inflamatoria crónica del aparato digestivo y puede afectar a cualquier zona del mismo, desde la boca hasta el ano. Habitualmente afecta a la porción terminal del íleon y a áreas bien definidas del intestino grueso. A menudo se asocia con trastornos autoinmunitarios sistémicos, tales como úlceras bucales y artritis reumática. La enfermedad de Crohn afecta a más de 500.000 personas en Europa y 600.000 personas en los Estados Unidos.

50 La enfermedad de Crohn es una patología asociada con una actividad excesiva de citocinas mediada por células Th1. La IL-12 es una citocina clave en la iniciación de la respuesta inflamatoria mediada por células Th1. La enfermedad de Crohn se caracteriza por una mayor producción de IL-12 por parte de células que presentan el antígeno en el tejido intestinal, y de interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) y TNF- $\alpha$  por parte de los linfocitos y los macrófagos intestinales. Estas citocinas inducen y favorecen el proceso inflamatorio y el engrosamiento de la pared intestinal, que son signos característicos de la patología. Las evidencias preclínicas y clínicas han demostrado que la inhibición de la IL-12 es eficaz en el control de la respuesta inflamatoria en modelos de inflamación intestinal y/o en pacientes afectados por la enfermedad de Crohn.

60 Actualmente, la relación entre el cáncer y la inflamación es un hecho establecido. Muchas formas de tumores se originan en puntos de inflamación y, en los tumores, a menudo se producen mediadores de la inflamación.

65 La IL-23 se ha identificado como una citocina asociada con el cáncer y, en particular, la expresión de IL-23 es significativamente alta en muestras de carcinomas humanos en comparación con los tejidos normales adyacentes. Además, la ausencia de una expresión significativa de IL-23 en los tejidos normales adyacentes sugiere una sobreexpresión de la IL-23 en los tumores, lo que refuerza su papel en la génesis tumoral.

**Características de la invención**

5 El presente solicitante ha percibido que persiste la necesidad de desarrollar un medicamento para un tratamiento más seguro y económico de enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis, que evite los diversos efectos adversos y los costes elevados de los tratamientos documentados hasta el momento.

10 El presente solicitante ha descubierto, sorprendentemente, que la bencidamina es capaz de inhibir la expresión y la sobreexpresión de la subunidad p40 de citocina. Además, el presente solicitante ha descubierto, sorprendentemente, que la bencidamina actúa sobre la subunidad p40 de citocina a concentraciones menores que las documentadas anteriormente para su actividad sobre el TNF.

15 Se ha descubierto, sorprendentemente, que la bencidamina se puede utilizar para tratar enfermedades inflamatorias causadas por una expresión o sobreexpresión de la subunidad p40 de citocina, seleccionadas entre la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis.

20 Correspondientemente, la presente invención se refiere a la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades inflamatorias relacionadas con la expresión de la subunidad p40 de citocina, seleccionadas entre la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis.

25 En otra forma de realización, la presente invención se refiere a la utilización de una cantidad terapéuticamente eficaz de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables para el tratamiento de enfermedades inflamatorias relacionadas con la expresión de la subunidad p40 de citocina, seleccionadas entre la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis, en un paciente que requiere dicho tratamiento.

30 Ventajosamente, se ha descubierto que la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en el tratamiento de la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis da mejores resultados que el tratamiento terapéutico conocido actualmente con compuestos capaces de interferir con el TNF.

35 Además, se ha descubierto asimismo que la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables según la presente invención tiene menos efectos adversos que el tratamiento terapéutico actualmente conocido con compuestos que pueden interferir con el TNF.

40 Además, se ha descubierto asimismo que la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables según la presente invención permite disponer de un tratamiento terapéutico más económico que el tratamiento terapéutico con compuestos capaces de interferir con el TNF.

45 Por último, aunque no menos importante, el presente solicitante ha descubierto que la bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables se pueden utilizar en una dosis menor que la dosis previamente conocida para inhibir la producción de TNF.

50 Correspondientemente, una forma de realización preferida de la presente invención se refiere a la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en la fabricación de un medicamento para el tratamiento, por administración sistémica o tópica, de enfermedades inflamatorias relacionadas con la expresión de la subunidad p40 de citocina, seleccionadas entre la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis.

55 Ventajosamente, el medicamento según la presente invención para su administración sistémica comprende una cantidad de 1 mg a 100 mg, más preferentemente de 5 mg a 50 mg, de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

60 Ventajosamente, el medicamento según la presente invención para su administración tópica comprende una cantidad comprendida entre el 1% y el 20%, más preferentemente entre el 1% y el 10%, de bencidamina, expresada según su forma de base libre, con respecto al peso total del medicamento.

65 En una forma de realización más preferida, la presente invención se refiere a la utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en una dosificación diaria comprendida entre 50 mg/kg y 0,1 mg/kg de bencidamina, expresada según su forma de base libre, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias relacionadas con la expresión de subunidad p40 de citocina, seleccionadas entre la enfermedad de Crohn, la artritis psoriásica y la psoriasis, en un paciente que requiere dicho tratamiento.

Preferentemente, la utilización de la presente invención comprende la administración sistémica o tópica.

Ventajosamente, la utilización de la presente invención comprende la administración sistémica de bencidamina o de

sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en una dosis diaria comprendida entre 5 mg/kg y 0,1 mg/kg de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

5 Ventajosamente, la utilización de la presente invención comprende la administración tópica de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en una dosis diaria comprendida entre 50 mg/kg y 1 mg/kg de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

#### Descripción detallada de la invención

10 En el contexto de la presente invención, la bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables se pueden administrar como tales.

15 Ventajosamente, la bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables se pueden administrar en forma de preparaciones farmacéuticas para su administración sistémica o tópica.

20 La bencidamina puede formar sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables con ácidos orgánicos o inorgánicos fisiológicamente aceptables. Entre los ejemplos típicos de ácidos minerales fisiológicamente aceptables se incluyen el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido fosfórico y el ácido nítrico. Entre los ejemplos típicos de ácidos orgánicos fisiológicamente aceptables adecuados se incluyen el ácido acético, el ácido ascórbico, el ácido benzoico, el ácido cítrico, el ácido fumárico, el ácido láctico, el ácido maleico, el ácido metanosulfónico, el ácido oxálico, el ácido para-toluenosulfónico, el ácido bencenosulfónico, el ácido succínico, el ácido tánico y el ácido tartárico.

25 Si se administran por vía sistémica, las preparaciones farmacéuticas pueden ser sólidas, tales como comprimidos, grageas, cápsulas, polvos y formas de liberación lenta, o líquidas, tales como soluciones estériles para inyecciones intravenosas o intramusculares, suspensiones y emulsiones.

30 Las preparaciones farmacéuticas para uso tópico pueden ser formas de dosificación vaginales, tales como soluciones de lavado, cremas y espumas, formas de dosificación para el tratamiento de la cavidad bucal, tales como enjuagues bucales y aerosoles, o formas de dosificación para la nariz y el oído, tales como pomadas, pastas, cremas, espumas, geles, soluciones y polvos.

35 Además de los excipientes convencionales, las preparaciones de la presente invención pueden comprender otros aditivos farmacéuticos adecuados, tales como conservantes, estabilizantes, emulsionantes, sales para regular la presión osmótica, tampones, colorantes y agentes aromatizantes.

Cuando resulte necesario para terapias específicas, las preparaciones de la presente invención también pueden comprender otros principios activos compatibles cuya administración simultánea resulte útil.

40 Ventajosamente, las preparaciones farmacéuticas según la presente invención para su administración sistémica comprenden una cantidad de 1 mg a 100 mg, más preferentemente de 5 mg a 50 mg, de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

45 Ventajosamente, las preparaciones farmacéuticas según la presente invención para su administración tópica comprenden una cantidad comprendida entre el 1% y el 20%, más preferentemente entre el 1% y el 10%, de bencidamina, expresada según su forma de base libre, con respecto al peso total del medicamento.

50 Para los usos prácticos en terapias, la cantidad eficaz de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables pueden variar dentro de un intervalo bastante amplio en función de factores conocidos, tales como el tratamiento específico requerido, la preparación farmacéutica seleccionada y la vía de administración, así como de la edad, el peso y la respuesta del paciente concreto. Aun así, la cantidad y el intervalo de dosificación eficaces óptimos puede ser determinado fácilmente por el médico responsable aplicando sencillos procedimientos rutinarios.

55 En general, la dosis diaria es preferentemente menor de 50 mg/kg, más preferentemente menor de 10 mg/kg y aún más preferentemente menor de 5 mg/kg de bencidamina como base libre.

60 Por otro lado, la dosis diaria es preferentemente mayor de 0,1 mg/kg, preferentemente mayor de 0,5 mg/kg y aún más preferentemente mayor de 1 mg/kg de bencidamina como base libre.

Por supuesto, si se utiliza una sal de adición de ácido de bencidamina, se administra una cantidad correspondiente a la cantidad mencionada anteriormente de bencidamina como base libre.

65 Ventajosamente, en caso de administración sistémica, la dosis diaria está comprendida preferentemente entre 5 mg/kg y 0,1 mg/kg de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

Ventajosamente, en caso de administración tópica, la dosis diaria está comprendida preferentemente entre 50 mg/kg y 1 mg/kg de bencidamina, expresada según su forma de base libre.

5 Las preparaciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar siguiendo las técnicas convencionales de la química farmacéutica, que comprenden el mezclado, la granulación y la compresión, cuando es necesario, o la mezcla y disolución variadas de los ingredientes, según sea apropiado, para obtener el resultado deseado.

10 Los siguientes ejemplos ilustran, por lo menos, una forma de poner en práctica la invención, aunque sin limitar en modo alguno el objeto para el que se solicita la protección, que resulta definido en las reivindicaciones adjuntas.

**Ejemplo 1**

Efecto de la bencidamina sobre la expresión del ARNm de p40 in vitro.

15 Se evaluó la capacidad de la bencidamina para inhibir la expresión de p40 por células MonoMac 6 estimuladas con lipopolisacáridos (LPS).

20 Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 50.000 células/pocillo. El compuesto se analizó a una concentración de 75 µM y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con LPS (100 ng/ml) durante 4 horas.

25 Se extrajo el ARN total del sedimento celular utilizando el minikit RNeasy (Qiagen), se retrotranscribió con el kit de síntesis de reactivos de retrotranscripción TaqMan Reverse (Applied Biosystems) y el ADNc obtenido se utilizó en la reacción de PCR en tiempo real.

30 La amplificación se obtuvo en placas de 96 pocillos utilizando el sistema de detección de secuencia ABI Prism 7000 (Applied Biosystems), aplicando el siguiente perfil de temperatura: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos y 45 ciclos a 95°C durante 15 segundos y 60°C durante 1 minuto. Para la amplificación, se utilizó un conjunto de cebadores y sonda específicos para la p40 humana (Applied Biosystems, RefSeq NM\_002187.2).

35 Se utilizó un conjunto de cebadores y sonda para la β-actina en pocillos separados como control interno de las muestras con fines de normalización. Una vez que la reacción había tenido lugar, se analizaron los datos de fluorescencia mediante el software ABI Prism 7000 SDS, calculando el ciclo umbral (Ct) para cada muestra y llevando a cabo, a continuación, una cuantificación relativa por el método ΔΔCt.

Los resultados obtenidos, expresados como porcentaje de inhibición, se recopilan en la siguiente tabla 1.

TABLA 1

40

Bencidamina [µM]	% de inhibición
75	80

Como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 1, la bencidamina fue capaz de inhibir significativamente la expresión inducida por LPS de p40 en una línea de monocitos humanos, mostrando un 80% de reducción de los niveles de ARNm específico.

45

**Ejemplo 2**

Efecto de la bencidamina en la producción de proteína p40 in vitro.

50 Se evaluó la capacidad del compuesto para inhibir la producción de la proteína p40 por células PBMC humanas estimuladas con anti-CD3 (células mononucleares de sangre periférica).

55 Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de 2 x 10<sup>5</sup> células/pocillo. El compuesto se evaluó en una curva de 1/2-log dosis de 6 puntos (en el intervalo 0,3-100 µM) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con anti-CD3 (4 µg/ml) durante 48 horas.

La cantidad de p40 producida se midió en los sobrenadantes, adecuadamente diluida con tampón, utilizando el sistema Luminex 100.

60 Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla 2.

TABLA 2

Bencidamina [ $\mu\text{M}$ ]	% de inhibición
100	99
30	97
10	44
3	24
1	23
0	0

5 Tal como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 1, el compuesto fue capaz de inhibir significativamente la producción de p40 inducida por anti-CD3 en PBMC humanas, mostrando una inhibición dentro del intervalo 23-99% y dando lugar a una IC<sub>50</sub> de 10,1  $\mu\text{M}$ .

### Ejemplo 3

#### 10 Efecto de la bencidamina en el TNF in vitro.

Se evaluó la capacidad del compuesto para inhibir la expresión de la proteína TNF por parte de células PBMC humanas estimuladas con anti-CD3 (células mononucleares de sangre periférica).

15 Las células se colocaron en placas de 96 pocillos a una concentración de  $2 \times 10^5$  células/pocillo. El compuesto se evaluó en una curva de 1/2-log dosis de 6 puntos (en el intervalo 0,3-100  $\mu\text{M}$ ) y se incubó durante 1 hora. A continuación, las células se estimularon con anti-CD3 (4  $\mu\text{g/ml}$ ) durante 48 horas.

20 La cantidad de TNF producida se midió en los sobrenadantes, adecuadamente diluida con tampón, utilizando el sistema Luminex 100.

Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla 3.

TABLA 3

Bencidamina [ $\mu\text{M}$ ]	% de inhibición
100	70
30	44
10	22
3	12
1	8
0	7

25 Tal como muestran los resultados obtenidos y recogidos en la tabla 3, el compuesto fue capaz de inhibir la producción de TNF inducida por anti-CD3 en PBMC humanas dentro del intervalo 8-70%, dando lugar a una IC<sub>50</sub> de 43,1  $\mu\text{M}$ , que es aproximadamente 4 veces mayor que la obtenida para la p40.

30 **Ejemplo 4**

#### Efecto de la bencidamina sobre la psoriasis en placas

35 Dada la falta de modelos animales experimentales fiables para la psoriasis (Lowes MA y otros, Nature 2007; 445:866-73) y teniendo en cuenta la larga experiencia con la bencidamina en humanos, su baja exposición sistémica tras la administración tópica y su excelente perfil de seguridad, la bencidamina se evaluó en forma de crema al 5% (correspondiente a la formulación de la siguiente tabla 8) en un pequeño grupo de pacientes afectados por psoriasis.

40 La crema se ensayó en siete pacientes afectados por formas entre leves y moderadas de psoriasis en placas (PASI  $\leq 10$ ). El índice PASI (Psoriasis Area Severity Index) es una medida validada de gravedad media de las lesiones de la piel, que se evalúa según los criterios de "enrojecimiento", "engrosamiento" y "descamación", y se pondera según el porcentaje del área afectada y la localización de las lesiones. La crema se aplicó y masajéó suavemente en el área afectada hasta ser absorbida por la piel, una vez al día durante 30 días consecutivos.

45 El tratamiento con crema de bencidamina al 5% resultó eficaz en 4 de los 7 pacientes tratados, que mostraron una significativa reducción  $\geq 50\%$  en el PASI.

### 50 **Ejemplo 5**

Las siguientes tablas 4 a 9 muestran ejemplos específicos de preparaciones farmacéuticas según la presente

invención.

TABLA 4

5

Comprimido recubierto de bencidamina 50 mg

	Cantidad (mg)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	50
Excipientes	
Almidón	18,95
Celulosa microcristalina	65,25
Fosfato de calcio dibásico	28
Talco	5
Estearato de magnesio	1
Dióxido de silicio coloidal	1,8
Hipromelosa	1,5
PEG 6000	2,85
Acacia	1,5
Dióxido de titanio	0,8
Sacarosa	103
Cera blanca	0,105
Cera de carnauba	0,015

TABLA 5

10

Gotas orales de bencidamina al 3%

	Cantidad (g)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	3
Excipientes	
p-hidroxibenzoato de metilo	0,18
p-hidroxibenzoato de propilo	0,02
Sacarina	0,258
Bicarbonato de sodio	0,118
Aroma de menta	0,5
Agua purificada c. s. hasta 100 ml	

TABLA 6

15

Ampollas de 25 mg de bencidamina

	Cantidad (mg)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	25
Excipientes	
Agua estéril para inyección c. s. hasta 5 ml	

TABLA 7

20

Crema de bencidamina al 3%

	Cantidad (g)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	3
Excipientes	
Parafina blanca blanda	15
Alcohol cetílico	10
Propilenglicol	10
Polisorbato 60	3
Estearato de sorbitán 60	3
Agua purificada c. s. hasta 100 g	



TABLA 8

Crema de bencidamina al 5%

	Cantidad (g)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	5
Excipientes	
Glicerina y palmitoestearato de polioxietilenglicol	18
Oleato de decilo	5
Propilenglicol	5
Macroglicéridos de lauroilo	3
Silicona líquida	1
Perfume	0,2
Parahidroxibenzoato de metilo	0,18
Parahidroxibenzoato de propilo	0,02
Agua purificada c. s. hasta 100 g	

5

TABLA 9

Bencidamina al 5% en gel

	Cantidad (g)
Sustancia activa	
Clorhidrato de bencidamina	5
Excipientes	
Alcohol isopropílico	20
Glicerol	2
Hidroxietilcelulosa	1,8
Perfume	0,2
Agua purificada c. s. hasta 100 g	

10

## REIVINDICACIONES

- 5 1. Utilización de bencidamina o de sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad inflamatoria causada por la expresión de la subunidad p40 de citocina, en la que dicha enfermedad inflamatoria se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad de Crohn, artritis psoriásica y psoriasis.
- 10 2. Utilización según la reivindicación 1, en la que dicho medicamento se formula para la administración sistémica o tópica.
- 15 3. Utilización según la reivindicación 2, en la que dicho medicamento para la administración sistémica comprende una cantidad de desde 1 mg a 100 mg, más preferentemente desde 5 mg a 50 mg, de bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre.
- 20 4. Utilización según la reivindicación 2, en la que dicho medicamento para la administración tópica comprende una cantidad de desde 1% a 20%, más preferentemente desde 1% a 10%, en peso de bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre, basándose en el peso total del medicamento.
- 25 5. Utilización según la reivindicación 2, en la que dicho medicamento se administra a una dosis diaria de desde 50 mg/kg a 0,1 mg/kg de bencidamina, o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre.
- 30 6. Utilización según la reivindicación 2, en la que dicho medicamento para la administración sistémica se administra a una dosis diaria de desde 5 mg/kg a 0,1 mg/kg de bencidamina, o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre.
- 35 7. Utilización según la reivindicación 2, en la que dicho medicamento para la administración tópica se administra a una dosis diaria de desde 50 mg/kg a 1 mg/kg de bencidamina, o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre.
- 40 8. Composición farmacéutica para su utilización en el tratamiento de una enfermedad inflamatoria causada por la expresión de la subunidad p40 de citocina mediante administración sistémica o tópica, en la que dicha enfermedad inflamatoria se selecciona de entre el grupo que consiste en enfermedad de Crohn, artritis psoriásica y psoriasis, en la que dicha composición farmacéutica comprende bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables.
- 45 9. Composición farmacéutica según la utilización según la reivindicación 8, en la que dicha composición farmacéutica comprende una cantidad de desde 1 mg a 100 mg, más preferentemente desde 5 mg a 50 mg, de bencidamina o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre, en la que la composición está destinada a la administración sistémica.
- 50 10. Composición farmacéutica según la utilización según la reivindicación 8, en la que dicha composición farmacéutica comprende de desde 1% a 20%, más preferentemente desde 1% a 10% en peso de bencidamina, o sus sales de adición de ácido fisiológicamente aceptables, expresada como base libre, basándose en el peso total de la composición, en la que la composición está destinada a la administración tópica.
11. Composición farmacéutica según la utilización según cualquiera de las reivindicaciones 8 a 10, en la que dicha sal de adición de ácido fisiológicamente aceptable de la bencidamina se obtiene con un ácido mineral u orgánico seleccionado de entre el grupo que comprende ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido acético, ácido ascórbico, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido para-toluenosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido succínico, ácido tánico y ácido tartárico, en la que la composición está destinada a la administración sistémica o tópica.