(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 570 332**

(51) Int. Cl.:

A61K 45/06 (2006.01)
A61K 31/4015 (2006.01)
A61K 31/40 (2006.01)
A61K 31/47 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.03.2006** **E 06723360 (1)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **03.02.2016** **EP 1863476**

(54) Título: **La combinación de anticolinérgicos y antagonistas del receptor de leucotrieno para el tratamiento de enfermedades respiratorias**

(30) Prioridad:

16.03.2005 US 661918 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.05.2016

(73) Titular/es:

MEDA PHARMA GMBH & CO. KG (100.0%)
BENZSTRASSE 1
61352 BAD HOMBURG, DE

(72) Inventor/es:

MAUS, JOACHIM;
FYRNYS, BEATRIX;
HOFFMANN, TORSTEN;
WEINGART, MARIO;
SZELENYI, ISTVAN;
CNOTA, PETER, JÜRGEN;
MUNZEL, ULLRICH y
PETZOLD, URSULA

(74) Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 570 332 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

La combinación de anticolinérgicos y antagonistas del receptor de leucotrieno para el tratamiento de enfermedades respiratorias

La presente invención se refiere a una combinación que comprende R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables para usar en el tratamiento de enfermedades respiratorias que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Además comprende la presentación de esta combinación en una formulación aplicada (inhalada) localmente y la aplicación en un dispositivo de inhalación por ejemplo en el Novolizer®.

La rinitis alérgica afecta al 20% de la población adulta y hasta el 40% de los niños. Aunque la rinitis en sí misma no es potencialmente mortal (menos si está acompañada de asma severa o anafilaxis), la morbilidad debida a la enfermedad puede ser significativa. La rinitis alérgica a menudo coexiste con otros trastornos, tales como asma, sinusitis, pólipos nasales, conjuntivitis alérgica, y dermatitis atópica. La rinitis puede reducir también considerablemente la calidad de vida, la productividad, el aprendizaje, etc.. Además, una terapia insuficiente de la rinitis puede conducir a otros trastornos que incluyen infección de los senos nasales, oídos y el tracto respiratorio inferior. Una terapia eficaz para la rinitis alérgica requiere entender la fisiopatología de la enfermedad, así como el papel de varios mecanismos inflamatorios. Por ello, están a disposición del médico varias clases de medicamentos para tratar a los pacientes con rinitis alérgica. Entre estos están los antihistamínicos de 2ª generación y los agentes anticolinérgicos, corticoides intranasales, y estabilizadores de mastocitos. Recientemente, se han añadido antagonistas del receptor de leucotrieno (LT) a los modos de la terapia.

El mecanismo de la rinitis alérgica es el de una típica enfermedad alérgica. Con respecto a su fisiopatología, hay varias similitudes entre la rinitis y el asma. La rinitis se define como una inflamación de las membranas nasales y se caracteriza por un síntoma complejo que consiste en cualquiera de las siguientes combinaciones: estornudo, congestión nasal, picor nasal y rinorrea. Hasta el momento, los agentes farmacológicos más comúnmente utilizados para el tratamiento de la rinitis son los antagonistas del receptor H_1 de histamina, descongestivos, cromoglicato sódico, corticoides, antagonistas del receptor-cysLT y anticolinérgicos.

El asma bronquial, que afecta hasta el 10% de los individuos de los países industrializados, se caracteriza por broncoconstricción, inflamación crónica de las vías respiratorias, hiperreactividad de las vías respiratorias, y edema de la mucosa. La neurotransmisión no adrenérgica y no colinérgica alterada y remodelación de las vías respiratorias pueden contribuir a la obstrucción irreversible de las vías respiratorias y reducción de la función pulmonar. El asma bronquial ha emergido como un serio problema de salud pública mundial durante los últimos 20 años. Aunque los datos indican que las terapias actuales para el asma conducen a disminuir los índices de mortalidad, continúa siendo un problema de salud significativo. Es aún una de las causas que conduce a la hospitalización mundial prevenible y es responsable de varios millones de días laborales perdidos. Junto con el incremento de la prevalencia del asma, también han ascendido drásticamente los costes asociados con esta enfermedad.

La fisiopatología del asma implica una intrincada red de interacciones moleculares y celulares, aunque la contribución de cada factor individual es probablemente diferente de paciente a paciente dependiendo de la configuración y estímulos. Muchos participantes en el desarrollo de un fenotipo asmático incluyen la activación de estímulos tales como los mismos alérgenos, células tales como células T, células epiteliales y mastocitos que producen una variedad de citoquinas que incluyen IL-5, GM-CSF, IL-3, IL-4 e IL-13 y quimioquinas tales como eotaxina, moléculas de adhesión, etc.. Recientes avances en el conocimiento de los mecanismos inflamatorios e inmunológicos del asma han indicado muchos caminos terapéuticos potenciales que pueden prevenir o revertir anormalidades implícitas del asma.

En la actualidad, la farmacoterapia es la base del tratamiento del asma. Están disponibles agonistas β_2-adrenérgicos inhalados de corta y larga duración de la acción. Los agonistas β_2-adrenérgicos de corta duración de la acción se usan actualmente según la demanda para el alivio rápido de los síntomas. En los últimos años, los agonistas β_2-adrenérgicos de larga duración de la acción han tenido un papel cada vez mayor en el manejo del asma, particularmente en pacientes con asma de moderado a severo. Los fármacos antimuscarínicos son bastante menos eficaces en el alivio del ataque de asma que los agonistas β_2-adrenérgicos (Rodrigo y Rodrigo, Chest 2002;121:1977-87). Sin embargo, con la introducción del nuevo anticolinérgico tiotropio, el uso de anticolinérgicos en enfermedades respiratorias aumentará enormemente. Los corticoides inhalados se han convertido en el pilar de la terapia en el asma crónico. Estos son los tratamientos disponibles más eficaces clínicamente pero pueden producir efectos secundarios graves y, además, ser ineficaces en asmáticos resistentes a corticosteroides.

La enfermedad obstructiva crónica (EPOC) es también muy común. Esta enfermedad se caracteriza por una limitación progresiva del flujo de aire acompañada de reacciones inflamatorias. De una revisión de datos a nivel mundial, queda claro que el tabaco no es la única causa de EPOC. El incremento del envejecimiento mundial es también un cierto factor de riesgo. La prevalencia de EPOC varía entre el 3% y el 10% con una tendencia en constante aumento. Aunque la EPOC es una de las principales causas de enfermedad y muerte, su reconocimiento como un problema de salud pública ha sido lento a pesar de la evolución del aumento del índice de mortalidad por EPOC y del descenso en el índice de muertes para la mayoría de las enfermedades cardiovasculares (Hurd Chest

2000; 117(2 Suppl):1S-4S). Adicionalmente, la EPOC supone una sustancial carga económica para los individuos y la sociedad.

En general, se conoce mucho menos sobre la patogénesis de la EPOC que la del asma. Estudios recientes han ampliado enormemente el conocimiento de los mecanismos patogénicos subyacentes de la EPOC. Así, hay un consenso de que la EPOC es también una enfermedad inflamatoria. Desde el actual punto de vista patogénico, los neutrófilos granulocíticos, linfocitos CD8+ y macrófagos con sus mediadores juegan probablemente papeles cruciales en la patogénesis de la EPOC.

El actual manejo está enfocado en la mejora de la función pulmonar de los pacientes que sufren EPOC.

La primera etapa en este proceso es dejar de fumar. Hay evidencias de que la reducción o el abandono del tabaco puede resultar en la mejora de algunos parámetros respiratorios. Los broncodilatadores (agonistas β_2-adrenérgicos y anticolinérgicos) son en la actualidad el pilar de la terapia sintomática. Los agonistas β_2-adrenérgicos de corta y larga duración de acción tales como salbutamol, fenoterol, salmeterol, formoterol, se establecen como terapias en el manejo de la EPOC sintomática. De los fármacos antimuscarínicos de corta duración de acción, ipatropio es ampliamente usado. Recientemente, tiotropio, un anticolinérgico de larga duración de acción con una preferencia cierta por receptores M_3-muscarínicos se ha introducido en la actualidad en todo el mundo (Hansel y Barnes, Drugs Today (Barc) 2002; 38:585-600). Los agentes anticolinérgicos se pueden usar eficazmente en el tratamiento de la EPOC en caballos, además ipatropio a una dosis de 2.400 µg/caballo es un broncodilatador eficaz en caballos con EPOC (Duvivier et al. Equine Vet J 1999; 31:20-4, Bayly et al. Equine Vet J. 2002 Jan;34(1):36-43). En el presente, la terapia anti-inflamatoria de la EPOC está sin resolver. El uso de glucocorticoides sistémicos e inhalados para la EPOC ha incrementado apreciablemente en los últimos 20 años. Estos se han ensayado sobre la premisa de que la interferencia con la inflamación en la EPOC debería modificar el curso de la enfermedad. Aunque los corticoides inhalados tienen un probado beneficio en el manejo del asma, hasta hace poco, su eficacia en no asmáticos, con EPOC relacionada con el tabaquismo no estaba basada en la evidencia (Bonay et al. Drug Saf 2002; 25:57-71). Los corticosteroides inhalados tienen relativamente poco impacto en los procesos inflamatorios que caracterizan a la EPOC (Adcock y Chung, Curr Opin Investig Drugs 2002; 3:58-60).

La obstrucción del flujo del aire y la inflamación de las vías respiratorioas son características de la rinitis/alérgica asma así como de la EPOC. Hay una fuerte evidencia de que la inflamación de las vías respiratorias es un problema subyacente predominante en pacientes con rinitis, asma y EPOC. Aunque la inflamación de las vías respiratorias en rinitis/asma y EPOC, respectivamente, implica diferentes tipos de células, ambas enfermedades son de naturaleza inflamatoria crónica asociada con infiltración y activación celular. Mientras que la rinitis alérgica y el asma bronquial se caracterizan predominantemente por eosinófilos y linfocitos CD4, en la patogénesis de la EPOC parecen jugar un mayor papel neutrófilos granulocíticos, linfocitos CD8 y macrófagos.

Enfermedades semejantes a asma y EPOC, respectivamente, pueden aparecer en animales, por ejemplo en caballos. Hay evidencia de que LTB_4 y LTD_4 podrían contribuir a la patogénesis de la EPOC equina (Marr et al. Res Vet Sci 1998; 64;219-24). En caballos hay aparentemente una relación entre la generación de LTs y el sistema colinérgico. La inflamación neutrofílica en las vías aéreas y broncoespasmo mediado por receptores vía muscarínica son características de EPOC en caballos. LT_s se han declarado estar implicados en la exacerbación de la EPOC. De hecho, tales mediadores como LT_s aumentan la respuesta colinérgica en vías aéreas de equinos (Olszewski et al. Am J Physiol 1999; 276:L522-9). Hay también evidencias de que la activación colinérgica (acetilcolina) estimula a macrófagos alveolares a secretar productos derivados de lipoxigenasa (LTB4 y $CysLT_s$) (Sato et al. Am J Physiol 1998; 274:L970-9).

Los rinovirus son la causa de más del 50% de las infecciones del tracto respiratorio. Las complicaciones de infecciones por rinovirus (por ejemplo resfriado común), que incluyen por ejemplo la manifestación o exacerbaciones del asma, pueden ser significativos en determinadas poblaciones. Además, puede ser una gran ventaja para minimizar las consecuencias adversas potenciales por el uso de una terapia adecuada. Se ha demostrado recientemente que los resfriados por rinovirus inducen inflamación bronquial con una expresión de la vía de las proteínas 5-LO considerablemente mejorada (Seymour et al Dis 2002; 185:540-4) indicando que la producción de LT_s en estas vías aéreas está aumentada. Consecuentemente, antagonistas de LT parecen ser capaces de reducir los síntomas pulmonares subsecuentes de la infección por virus (Bisgaard et al. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167:379-83). Además, es bien conocido que los anticolinérgicos similares a ipatropio proporcionan alivio específico de la rinorrea y los estornudos asociados con los resfriados comunes (Hayden et al. Ann Med 1996; 125:89-97).

Los leucotrienos (LT_s) son mediadores importantes de la fisiopatología de enfermedades alérgicas de las vías respiratorioas tales como asma y rinitis, y también están implicados en EPOC. Los principales efectos mediados vía LTs, son broncoconstricción, inflamación de las vías respiratorias, edema e hipersecreción de moco.

El metabolismo del ácido araquidónico vía 5-lipooxigenasa da como resultado un grupo de lípidos activos biológicamente conocidos como leucotrienos (LTs). El LTB_4 es un potente activador de la quimiotaxis de leucocitos. Los cisteinil LTs (LTC_4, LTD_4, LTE_4) explican la actividad espasmogénica previamente descrita como una sustancia de reacción lenta de anafilaxis (SRS-A). Estos mediadores inflamatorios se producen por varios tipos de células que incluyen mastocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, macrófagos y monocitos. Estos ejercen sus efectos biológicos

mediante unión y activación a receptores específicos (LTB_4 y al receptor BLT, cisteinil-LTs al receptor-$cysLT_1$). Esto conduce a una serie de eventos que conducen a la contracción del músculo liso de las vías respiratorias, quimiotaxis, permeabilidad vascular aumentada, hipersecreción de moco, y descenso de la motilidad ciliar del ser humano. Estos efectos conducen a un importante papel en las enfermedades de asma, rinitis alérgica y EPOC.

Los antagonistas del receptor-$cysLT_1$ (por ejemplo zafirlukast, montelukast, pranlukast) derivados de otros antagonistas del receptor-LT, tales como L-648, 051, MK-571, verlukast (MK-0679), pobilukast (SK&F 104353), AS-35, ICI 204, 219, etc.) representan un tratamiento eficaz y bien tolerado para el asma y rinitis alérgica en adultos y niños, particularmente para el asma inducido por el ejercicio y aspirina. Estos pueden tener también aplicaciones clínicas en la EPOC. Recientemente, se ha sugerido que zafirlukast, un antagonista del receptor-cysLT puede incrementar el volumen y la ventilación alveolar en pacientes que sufren de EPOC (Bu et al. Chin Med J 2003; 116(3):459-461).

Aunque no hay datos clínicos convincentes de una contribución adicional mediante LTB_4 en el asma humano, en otras condiciones respiratorias tales como EPOC, que se caracterizan por una infiltración de neutrófilos pronunciada, puede ser que las propiedades quimiotácticas del LTB_4 sean más importantes (Daniel y O´Byrne, Am Rev Respir Dis 1991, 143:S3-5). En pacientes que sufren EPOC, el mayor estrés oxidativo va acompañado de una mayor capacidad de los neutrófilos para sintetizar el factor quimiotáctico LTB_4, y pueden contribuir finalmente a la infiltración/activación de los neutrófilos dentro de las vías respiratorias de los pacientes con EPOC (Santus et al. Am J Respir Crit Care Med 2004; [Epub antes de publicar]). Adicionalmente, hay un aumento selectivo de LTB_4 exhalado en pacientes con EPOC (Montuschi et al. Thorax 2003; 58:585-8). Los medicamentos anticolinérgicos se han aceptado como una modalidad de tratamiento importante en enfermedades de vías respiratorias superiores e inferiores, rinitis, asma y EPOC. El antagonista del receptor muscarínico, que se usa en esta invención será un compuesto de larga duración de acción. Se puede utilizar en el enfoque de esta combinación terapéutica cualquier compuesto de este tipo.

El glicopirrolato, otro compuesto anticolinérgico de amonio cuaternario, consiste en cuatro estereoisómeros. El glicopirrolato pertenece a los llamados fármacos anticolinérgicos y antagoniza al neurotransmisor de acetilcolina a su lugar receptor. Este efecto conduce a una considerable broncodilatación y a una reducida secreción de moco. El moco se absorbe escasamente por las membranas, así se reducen los efectos adversos de los anticolinérgicos (Ali-Melkkila et al. Acta Anaesthesiol Scand 1993;37:633-42). El glicopirrolato no posee selectividad en su unión a los receptores M_1-M_3. Estudios cinéticos mostraron, sin embargo, que el glicopirrolato se disocia lentamente a partir de receptores muscarínicos M_3(Haddad et al. Br j Pharmacol 1999;127:413-20). Similarmente para tiotropio, este comportamiento explica la selectividad relativa del receptor de glicopirrolato y su larga duración de acción. De hecho, hay evidencia de que el racémico de glicopirrolato produce efectos broncodilatadores considerables y de larga duración en asmáticos y en pacientes con EPOC (Walker et al. Chest 1987; 91:49-51, Schroeckenstein et al. J Allergy Clin Inmunol 19881; 82:115-9, Gilman et al. Chest 1990; 98:1095-8, Cydulka y Emerman, Ann Emerg Med 1995; 25:470-3). Adicionalmente, el uso de medicación anticolinérgica tópica (por ejemplo ipatropio o glicopirrolato) en rinitis alérgica es segura y eficaz en la reducción de los síntomas (Milford et al. J Laryngol Otol 1990; 104:123-5, Meltzer J Allergy Clin Immunol 1992; 90:1055-64). Como la rinitis, el asma y la EPOC se caracterizan por un incremento de las secreciones de moco, el efecto antisecretor de anticolinérgicos tales como glicopirrolato es una ventaja adicional para su uso en la terapia de estas enfermedades.

De la técnica anterior se conoce que el glicopirrolato es un broncodilatador eficaz en pacientes con EPOC (Tzelepis et al. Eur. Respir.J.9 (1996); 100-103.

El uso de glicopirrolato y antagonistas del adrenoreceptor beta para el tratamiento de la enfermedad obstructiva de vías aéreas se describen en WO 2005/110402.

Asimismo se conoce, que pacientes con EPOC que se tratan con ipatropio y formoterol tienen una reducción adicional de los síntomas de montelukast (Celik et al. Respiratory Medicine 99 (2005); 444-450.

Sin embargo, tratamientos actuales para el asma y EPOC no son satisfactorios. Lo mismo es válido para la rinitis donde la enfermedad nasal relativamente simple, a pesar de un tratamiento aparentemente satisfactorio, se desarrolla además de asma bronquial. Dada la alta prevalencia de estas enfermedades,

Por lo tanto, el problema subyacente de la presente invención fue la presentación de intervenciones terapéuticas mejoradas, más eficaces y más cómodas.

Este problema se resolvió según la presente invención mediante una combinación de R,R-glicopirrolato y sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast y sus sales fisiológicamente aceptables.

Los antagonistas de receptores de BLT y CysLT reducen los procesos inflamatorios tanto de las vías respiratorias superiores como inferiores (por ejemplo rinitis, asma y EPOC). Por tanto, estos efectos de los antagonistas del receptor LT dan como resultado una función de la mucosa y bronquial mejorada en pacientes que sufren de enfermedades de las vías aéreas que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial o EPOC. Las propiedades farmacodinámicas de ambas clases de fármacos, anticolinérgicos (especialmente R,R-glicopirrolato) y antagonistas del receptor LT se complementan entre sí y resulta en un tratamiento más eficaz de las enfermedades mencionadas dando lugar a una minimización del riesgo sistémico. La combinación según la invención, R,R-glicopirrolato o sus

sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables, es superior a la de monocompuestos con respecto a la eficacia terapéutica, seguridad, inicio y duración de la acción, o efectos adversos, sorprendentemente consistente en una manera sumatoria. Adicionalmente, el cumplimiento de los pacientes también se incrementó.

Parte experimental

No sólo TNF_{α} sino también IL-2 juegan un importante papel en enfermedades inflamatorias de las vías respiratorias. Se conoce que en ciertas formas de asma (por ejemplo intrínseca y ocupacional), se produce un subgrupo particular de células T, entre ellas, IL-2 (Ricci et al.; J Investig Allergol Clin Inmmunol 1994; 4:214-20). Además, los pacientes alérgicos tienen poblaciones especiales de células T que se pueden inducir por secreción de IL-2 (McHugh et al.; Clin Exp Allergy 1993; 23:137-44). Se ha demostrado también que zafirlukast, un antagonista del receptor CysLT era capaz de disminuir, entre otros, la expresión de IL-2 en ovoalbúmina sintetizada de ratas Brown Norway (Lin et al.; Clin Exp Allergy 2002; 32:960-6). Por tanto, la influencia de R,R-glicopirrolato en la combinación con antagonistas del receptor cysLT sobre la liberación de TNF_{α} e interleuquina(IL)-2 se investigó mediante el uso de células mononucleares de sangre periférica humana (CMSPs). Las investigaciones se aprobaron por el Comité Ético Universitario según las Declaraciones Internacionales de Helsinki y Tokio.

Las CMSPs se aislaron de muestras sanguíneas heparinizadas de donantes sanos mediante centrifugación por densidad de gradiente. Se añadió un volumen igualitario de tampón Hanks (Life Technologies, Heidelberg, Alemania) a todas las muestras sanguíneas heparinizadas.

Se revistieron 15 ml de Histopaque-1077 (Sigma, Deisenhofen, Alemania) con un máximo de 40 ml de la mezcla de sangre/Hanks y se centrifugaron durante 30 minutos a temperatura ambiente (2000 rpm). Se transfirió una banda visible que contiene CMSPs a un tubo nuevo y se lavó dos veces con tampón Hanks. Finalmente se cultivaron las células en un medio RPMI 1640 (Life Technologies, Heidelberg, Alemania) con Glutamax I (Gibco BRL, Eggenstein) y 10% de FCS (Boehringer Mannheim, Penzberg, Alemania). Después del cultivo, las CMSPs se cultivaron en un Medio RPMI 1640 enriquecido con un 10% de suero fetal bovino (SFB) a 37°C, 5% CO_2 durante la noche. Se aislaron los monocitos de otras células mediante el método de adherencia, las células no adheridas se eliminaron cambiando el medio.

Las células se resuspendieron a razón de 10^6 células/ml y se incubaron en volúmenes de 500µl en 24 placas de cultivo de tejido (Falcon Becton Dickinson Labware) a 37°C, 5% CO_2. Después de la pre-incubación con sustancias de ensayo (medio 0,5 µl/500µl) durante 30 minutos, las células se estimularon con lipopolisacárido (LPS) (100ng/ml). En lugar de LPS, se usaron para estimular la secreción de IL-2, TPA (forbol-12-miristato-13-acetato)(25nM) e ionomicina (1µg/ml). A tiempos indicados las células se sedimentaron por centrifugación. Los sobrenadantes se cosecharon y mantuvieron congelados a -80°C hasta la determinación proteínica; las células se rompieron mediante tampón RLT lisis (Qiagen, Hilden, Alemania) y se congelaron a -80°C hasta el análisis.

Las mediciones de citoquina en los sobrenadantes en cultivo se hicieron mediante ELISA sándwich usando parejas de anticuerpos (Pharmingen, Heidelberg, Alemania). Las placas ELISA (Maxisorb, Nunc) se recubrieron toda la noche con anticuerpos monoclonales (de sus siglas en inglés, mAb) anti-citoquina en tampón carbonato 0,1 M, a pH 9,5. Después de lavarse, las placas se bloquearon con Diluyente de Ensayo (Pharmingen, Heidelberg, Alemania) durante 1 hora y se lavó de nuevo. Las muestras de sobrenadante diluidas apropiadamente y estandarizadas apropiadamente se distribuyeron en duplicados y las placas se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente. Las placas se lavaron, e incubaron durante 1 hora con referencia a un detector (anticuerpo anti-citoquina biotilinado y Avidina-peroxidasa de rábano picante conjugada). Después de lavar, se añadió el sustrato (TMB y peróxido de hidrógeno). La reacción se paró por adición de H_3PO_4 1M. Las placas se leyeron a 450 nm (570nm de referencia) en un lector de microplacas (Dynatech). Los resultados se expresaron como un porcentaje del nivel de control de producción de citoquinas mediante células estimuladas en la ausencia del compuesto.

Por estimulación LPS, la TNFα basal liberada a partir de monocitos aumentó de 150pg/ml hasta 3208 pg/ml. El R,R-glicopirrolato en solitario no influyó en la TNFα inducida por LPS liberada hasta 10µmol/l. TPA/ionomicina fue considerablemente estimulada por la liberación de IL-2 a partir de CMSPs (de 0 pg/ml[bajo límite de detección] hasta 5.300 pg). Similarmente a TNFα, el R,R-glicopirrolato en solitario no tuvo influencia sobre la IL-2 estimulada liberada hasta 10µmol/l.

El antagonista del receptor cysL-T montelukast inhibió la liberación del TNFα en una manera dependiente de la concentración. El valor IC_{50} de montelukast ascendía a 2,45±0,85 nmol/l. La adición simultánea de 10µmol/l de R,R-glicopirrolato no influyó en la IC_{50} de montelukast (2,58 nmol/l).

Montelukast inhibió significativamente la liberación de IL-2 con un valor IC_{50} de 0,88±0,14nmol/l. La adición simultánea de 10µmol/l de R,R-glicopirrolato redujo sorprendente y muy significativamente la IC_{50} a 0,26±0,07nmol/l (p=0,0023) en una manera sumatoria.

En resumen, en base a las investigaciones experimentales presentes, concluimos que el R,R-glicopirrolato puede mejorar significativamente la actividad anti-inflamatoria de los antagonistas del receptor cysLT.

Ejemplos

La combinación terapéutica contemplada por esta invención comprende administrar R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables para usar para prevenir la aparición de una enfermedad de vías respiratorias superiores o inferiores o para tratar una condición existente y para reducir la inflamación de vías respiratorias. Los compuestos se pueden administrar juntos en una única forma de dosificación. O se pueden administrar en diferentes formas de dosificación. Se pueden administrar al mismo tiempo. O se pueden administrar tanto en tiempos cortos como distanciados, como cuando un fármaco se administra por la mañana y el segundo fármaco se administra por la tarde. La combinación se puede usar de forma profiláctica o después de que haya ocurrido la aparición de síntomas. En algunas situaciones la combinación (es) se puede usar para prevenir la progresión de una enfermedad de las vías aéreas o para detener el deterioro de una función tal como la función pulmonar.

Estos fármacos, R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables se administran habitualmente como un aerosol, o como un polvo inhalado. Esta invención contempla también administrar un fármaco después del otro o coadministrar ambos fármacos en una forma de liberación tal como un inhalador, poniendo ambos fármacos en el mismo inhalador en uno o incluso más recipientes. Las formulaciones están dentro del alcance de la técnica. Hasta la fecha, todos los antagonistas conocidos del receptor LT están disponibles oralmente y se administrarán como comprimidos. Sin embargo, hay evidencia de que los antagonistas del receptor LT son también eficaces cuando se aplican tópicamente.

Los principios activos se pueden aplicar de 1 a 8 veces al día, suficiente para mostrar la actividad deseada. Preferiblemente, los principios activos se aplican alrededor de una o cuatro veces al día, más preferiblemente una o dos veces al día. La larga duración de la acción hace posible la administración dos veces al día. Si los principios activos se presentan en forma de una combinación fija, la administración es más simple para el paciente, porque ambos principios activos se contienen en un dispositivo.

Montelukast se puede administrar oralmente en una cantidad de entre 1 y 100 mg/día en un adulto humano con la preferencia de 5 a 20 mg/día dependiendo de la intensidad de la inflamación de las vías aéreas. En pulverizadores o gotas nasales la concentración de montelukast, puede estar en el intervalo de 0,01 al 5% en la combinación. Las concentraciones preferidas para el antagonista del receptor LT es de 0,1% a 2%. En inhaladores dosificadores o polvos secos para inhalación la dosis de montelukast puede estar en el intervalo de 0,05 a 10 mg por dosis en la combinación, preferiblemente de 0,2 a 5 mg por dosis.

El anticolinérgico R,R-glicopirrolato inhalado o su sal, solvatos e hidratos se puede administrar a partir de inhaladores dosificadores o un polvo seco para inhalación en una cantidad de entre 1 y 500 µg/día en un adulto humano con la preferencia de 5 a 100 µg/día. En pulverizadores o gotas nasales la concentración de R,R-glicopirrolato de la invención puede estar en el intervalo de 0,0001% a 0,5%. Las concentraciones preferidas para R,R-glicopirrolato son de 0,001 a 0,1%.

Está contemplado que ambos principios activos podrían administrarse al mismo tiempo, o a poca distancia. Alternativamente, un fármaco se podría tomar por la mañana y otro durante el día. O en otro escenario, un fármaco podría tomarse dos veces al día y el otro una vez al día, ya sea en el mismo momento o dosificando dos veces en un día, o separadamente. Preferiblemente ambos fármacos se tomarían juntos al mismo tiempo.

Para uso veterinario, el anticolinérgico R,R-glicopirrolato se puede aplicar a caballos en una cantidad de 1 a 32 µg/kg/día con la preferencia entre 4 y 16 µg/kg/día solo o en combinación con montelukast inhalado o administrado oralmente. Montelukast se puede administrar en una cantidad en 10 a 1000 mg/día en caballos con la preferencia de 50 a 200 mg/día en función de la intensidad de la inflamación de las vías aéreas. La dosis deseada depende de la afinidad sobre su receptor y de la disponibilidad del sitio receptor.

Formulación y proceso de producción

La presente invención describe una combinación en la que R,R-glicopirrolato se administra solo o en combinación con montelukast, se administra simultáneamente, uno después del otro como sustancia individual o como una combinación fija en la materia descrita.

Las sustancias activas se pueden aplicar, según la invención, como una combinación fija simultáneamente, sucesivamente o independientemente una de la otra de forma tópica (intranasalmente o mediante inhalación) o en sustancias individuales o combinando la forma oral con la tópica. Si están presentes en formulaciones separadas, entonces están adaptadas la una a la otra y conteniendo los compuestos activos respectivos en dosis unitaria en las mismas cantidades y correspondientes razones de peso en los que pueden estar presentes en la combinación.

Las composiciones de administración oral o tópica se pueden formular como diferentes formas de administración farmacéuticamente aceptable, por ejemplo pulverizadores o gotas nasales, comprimidos, comprimidos recubiertos, cápsulas o gránulos. Las formas de dosificación tópica pueden incluir también una emulsión, una pasta, una crema y/o un gel.

En adición a los compuestos activos las preparaciones farmacéuticas según la invención pueden contener además constituyentes tales como conservadores, estabilizadores, agentes isotonizantes, espesantes, estabilizadores de suspensión, excipientes para el ajuste de pH, sistemas tampón, agentes humectantes y otros, por ejemplo colorantes.

Sustancias conservantes antimicrobianas incluyen, por ejemplo,: cloruro de benzalconio, clorobutanol, tiomersal, metilparabeno, propilparabeno, ácido sórbico y sus sales, edetato sódico, alcohol fenil etílico, hidrocloruro y bromuro de clorhexidina, acetato de clorhexidina, digluconato de clorhexidina, clorocresol, sales de fenilmercurio, alcohol fenoxi etílico, cloruro o bromuro de cetilpiridinio.

Puede ser adecuado usar como conservante una combinación de edetato sódico y cloruro de benzalconio. El edetato sódico se usa en concentraciones desde 0,05 hasta 0,1%, y el cloruro de benzalconio en concentraciones desde 0,005 hasta 0,05% acuoso, basada en la composición.

Excipientes adecuados para el ajuste de la isotonicidad u osmoralidad de las formulaciones son, por ejemplo: cloruro sódico, cloruro potásico, manitol, glucosa, sorbitol, glicerol, propilenglicol. En general, esos excipientes son empleados en concentraciones desde 0,1 hasta 10%.

Las formulaciones de la invención pueden incluir también sistemas tampón adecuados u otros excipientes para ajustar el pH para establecer y mantener un pH del orden de magnitud de 4 a 8, preferiblemente de 5 a 7,5. Sistemas tampón adecuados son por ejemplo citrato, fosfato, trometamol, glicina, borato, acetato. Estos sistemas tampón se pueden preparar a partir de sustancias tales como, ácido cítrico, fosfato monosódico, fosfato disódico, glicina, ácido bórico, tetraborato sódico, ácido acético, acetato sódico. Además se pueden usar excipientes para ajustar el pH, tales como ácido clorhídrico o hidróxido sódico.

Para preparar una suspensión acuosa estable que contiene un compuesto activo insoluble en agua, son necesarios además estabilizadores en suspensión adecuados y agentes humectantes adecuados para dispersar y estabilizar la sustancia farmacológica de manera adecuada.

Estabilizadores de la suspensión adecuados son polímeros solubles en agua o parcialmente solubles en agua: estos incluyen, por ejemplo, metilcelulosa (MC), carboximetilcelulosa sódica (Na-CMC), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), alcohol polivinílico (PVAL), polivinilpirrolidona (PVP), ácido poliacrílico, poliacrilamida, goma gellan (Gelrite®), alúmina hidratada (Unemul®), dextrinas, ciclodextrinas, eftalato acetato de celulosa, y mezclas de celulosa microcristalina (diferentes tipos de Avicel®) y carboximetilcelulosa sódica. Estas sustancias pueden servir simultáneamente como espesantes para incrementar la viscosidad y así prolongar el contacto de las sustancias farmacológicas con el tejido en el sitio de aplicación.

Agentes humectantes adecuados son, por ejemplo: cloruro de benzalconio, cloruro de cetilperidinio, tiloxapol, varios polisorbatos (Tween®), y además sustancias polietoxiladas y poloxámeros.

Para administración nasal de soluciones o suspensiones según la invención, están disponibles en la técnica varios dispositivos para la generación de gotas, gotitas y pulverizaciones. Por ejemplo, se pueden administrar formulaciones dentro de los conductos nasales por medio de un cuentagotas (o pipeta) que incluye un tubo dispensador de vidrio, plástico o metal. Se pueden proporcionar finas gotitas y pulverizaciones mediante una bomba dispensadora intranasal o botella agitadora como es bien conocido en la técnica.

La invención incluye también un kit que contiene una o más dosis unitarias deshidratadas de una o más sustancias farmacológicas así como cualquiera de los excipientes requeridos de la formulación, listo para la preparación de una solución o suspensión mediante adición de una cantidad adecuada de agua estéril o no estéril.

Los principios activos se pueden aplicar, según la invención, simultáneamente, sucesivamente o independientemente unas de otras, por inhalación como una combinación fija o en sustancias individuales o combinadas oralmente con inhalación.

Se pueden considerar como composiciones inhalables, inhaladores dosificadores presurizados, polvos secos o inhalación de soluciones sin propelente. Entre estos últimos están incluso estériles, listas para usar o soluciones, suspensiones o concentrados como una composición nebulizable en un medio acuoso y/o orgánico de inhalación que se preparan justo antes de su uso. Estas formas de dosificación son parte de la presente invención.

Los inhaladores presurizados de dosis medida con propelentes pueden contener el R,R-glicopirrolato y al menos un antagonista del receptor LT en solución o en dispersión en un propelente. Los propelentes que se pueden usar para la inhalación de aerosoles en la presente invención son bien conocidos: principalmente se aplican derivados halogenados de hidrocarburo, TG 134a y TG227, o sus mezclas. Además se añaden normalmente detergentes, (por ejemplo ácido oleico), estabilizadores (por ejemplo edetato sódico), co-disolventes (por ejemplo propilenglicol, polientilenglicol, glicerol), antioxidantes (por ejemplo ácido ascórbico), lubricantes (por ejemplo polioxietilen-gliceril-trioleato) o sistemas tampón u otros excipientes para ajustar el pH (por ejemplo ácido clorhídrico). El principio activo puede tener un diámetro medio de partícula de hasta 5µm.

Puede ser adecuado el uso como un complejo detergente/estabilizador/co-disolvente/lubricante una combinación de alcohol etílico y polioxietilen-25-gliceril-trioleato (nombre comercial: Tagat TO) en una concentración entre 0,5 y 1,5%.

Los aerosoles anteriormente mencionados contienen un propelente, soluciones o suspensiones según la invención que se administra mediante inhaladores de vanguardia, llamados inhaladores presurizados de dosis medida (=pMDI). Pueden estar equipados con sistemas de diferente tamaño de metal o plástico responsable de meter y liberar los principios activos.

Los polvos secos contienen al menos el principio activo anticolinérgico y/o al menos un antagonista del receptor LT ya sea solo o en una mezcla con un vehículo adecuado farmacéuticamente, e inocuo fisiológicamente. En las composiciones de polvo seco para inhalación se pueden elegir como vehículos materiales conocidos por ejemplo monosacáridos (por ejemplo, glucosa, arabinosa), disacáridos (por ejemplo lactosa, sacarosa, maltosa), oligo y polisacáridos (por ejemplo dextrano) y alcoholes azucarados (por ejemplo sorbitol, manitol).

La mejor tecnología disponible es usar principalmente lactosa como lactosa monohidrato. Se usan excipientes que ofrecen una distribución del tamaño de partícula de hasta aproximadamente 500µm, el diámetro medio de partícula preferido es de aproximadamente 110 a 290µm. El principio activo puede tener un diámetro medio de partícula de hasta 4 µm.

La inhalación de polvos según la presente invención puede administrarse mediante la ayuda de dispositivos de inhalación de polvos de vanguardia en la técnica por ejemplo el Novolizer®. El polvo de inhalación puede estar pre-medido en cápsulas (por ejemplo de gelatina) o en blísters (bolsas de aluminio) o medirse justo antes de su uso desde un reservorio a granel. El anticolinérgico y al menos un antagonista del receptor LT puede estar en una combinación fija o estar ambos principios activos separados en envases unitarios, que pueden administrarse independientemente el uno del otro desde un dispositivo o en un envase con dos o más dispositivos diferentes o simultáneamente.

Los siguientes ejemplos ilustrarán la invención sin restringirla.

Ejemplo 1

Pulverizador o gotas nasales que contienen glicopirrolato	
R,R-glicopirrolato	0,0070 g
Hidroxipropilmetilcelulosa	0,1000 g
Edetato sódico	0,0500 g
Cloruro de benzalconio	0,0125 g
Solución de sorbitol 70%	6,6000g
Agua purificada	hasta 100 ml

Preparación de la solución

Introducir el 80% del agua purificada dentro de un recipiente equipado con agitador adecuado. Añadir el glicopirrolato, hidroxipropilmetilcelulosa, cloruro de benzalconio, edetato sódico y la solución de sorbitol sucesivamente y disolver con agitación. Completar hasta el volumen final usando agua purificada y agitar. Filtrar la solución a través de un filtro de membrana que tiene un tamaño de poro de 0,2µm y dispensar dentro de frascos.

Ejemplo 2

Suspensión para pulverizador nasal o gotas nasales que contienen montelukast (1%)	
Montelukast	1,0000 g
Avicel RC 591	1,1000 g
Polisorbato 80	0,1000 g
Edetato sódico	0,0500 g
Cloruro de benzalconio	0,0200 g
Solución de sorbitol 70%	6,0000 g
Agua purificada	hasta 100 ml

Preparación de la suspensión:

Introducir el 80% del agua purificada dentro de un recipiente equipado con agitador adecuado que tiene un dispositivo de homogeneización y homogeneizar Avicel RC 591 a alta velocidad. Luego disolver las sustancias polisorbato 80, solución de sorbitol, edetato sódico y cloruro de benzalconio con agitación. Después homogenizar en el compuesto activo montelukast a alta velocidad hasta que resulte una suspensión uniforme. Después completar con agua purificada hasta el volumen final y homogeneizar. Después evacuar la suspensión para eliminar las burbujas de aire resultantes. La suspensión resultante se reparte dentro de frascos.

Ejemplo 3

Pulverización o gotas nasales que comprende R,R-glicopirrolato y montelukast

R,R-glicopirrolato	0,0070 g
Montelukast	1,0000 g
Avicel RC591	1,1000 g
Polisorbato 80	0,1000
Edetato sódico	0,0500 g
Cloruro de benzalconio	0,0200 g
Solución de sorbitol 70%	6,0000 g
Agua purificada	hasta 100 ml

Preparación:

Introducir el 80% del agua purificada dentro de un recipiente equipado con agitador adecuado que tiene un dispositivo de homogeneización y homogeneizar Avicel RC 591 a alta velocidad. Luego disolver el R,R-glicopirrolato y los excipientes Polisorbato 80, solución de sorbitol, edetato sódico y cloruro de benzalconio con agitación. Luego homogeneizar el principio activo montelukast a alta velocidad hasta que resulte una suspensión uniforme. Después completar con agua purificada hasta el volumen final y homogeneizar. Después evacuar la suspensión para eliminar las burbujas de aire resultantes. La suspensión resultante se reparte dentro de frascos.

Ejemplo 4

Polvo seco para inhalación con 20 µm de glicopirrolato y 2,5 mg de Montelukast por dosis unitaria

R,R-glicopirrolato	20,000 g
Montelukast	2500,000 g
Lactosa	9480,000 g

Preparación de un polvo seco para inhalación:

Se mezcla una cantidad de 20 g de glicopirrolato micronizado con 80 g de alfa lactosa monohidrato, la mezcla se pasa por un tamiz de 0,5 mm de tamaño de malla y finalmente se mezcla de nuevo. La mezcla obtenida se mezcla con 1800 g de alfa lactosa monohidrato (= mezcla 2). Esta mezcla se divide en dos partes. Se mezclan la primera parte de la mezcla 2 de glicopirrolato/lactosa y 2.500 g de Montelukast micronizado, la mezcla se pasa por un tamiz de 0,8 mm de tamaño de malla y finalmente se mezcla de nuevo (=mezcla 3). Se mezclan primero la mezcla 3 y 7.500 g de lactosa; finalmente se mezclan esta mezcla y la segunda parte de la mezcla 2 glicopirrolato/lactosa (=mezcla 4). La mezcla obtenida se pasa por un tamiz de 0,8 mm de tamaño de malla. Posteriormente, se mezcla de nuevo y la mezcla de polvo obtenida se completa en los inhaladores de polvo liberando 12 mg de polvo por dosis unitaria.

Por dosis unitaria, se liberan 20 µg de glicopirrolato y 2,5 mg de Montelukast desde un inhalador de polvo suministrado en las vías respiratorias del paciente.

Ejemplo 5:

Inhalador presurizado de dosis medida con 50 µg de glicopirrolato y 2,5 mg de Montelukast por dosis unitaria	
R,R-glicopirrolato	0,840 g
Montelukast	42,000 g
Sacarina sódica	1,800 g
Tagat TO	23,400 g
Alcohol etílico Absoluto	23,400 g
HFA 227	añadir 2340,000g

Preparación del inhalador presurizado de dosis medida:

Se enfría una cantidad de 2000 g de 1,1,1,2,3,3,3 heptafluoropropano (=HFA 227) a una temperatura de -55°C y, con agitación, se mezcla con 23,4 g de una solución de polioxietilen-25-gliceril-trioleato (nombre comercial: Tagat TO) en 23,4 g de alcohol etílico absoluto.

Después, se añaden 0.840 g de glicopirrolato micronizado y 42,000 g de Montelukast micronizado así como 1,800 g de sacarina sódica micronizada, y la suspensión que se produce se homogeniza intensamente. Mientras se enfría y se agita, la suspension se llena con 227 a 2340 g de propelente refrigerado y después de mezclarse se rellenan de nuevo en envases metálicos cerrados con válvulas dosificadoras que liberan 100 µl de la suspensión por actuación.

Se liberan 50µg de glicopirrolato y 2,5 mg de Montelukast por actuación

Compendio

La presente invención se refiere a una combinación que comprende R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables para usar en el tratamiento de enfermedades respiratorias que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial y enfermedad obstructiva crónica (EPOC). Además comprende la presentación de esta combinación en una formulación aplicada localmente (inhalada) y la aplicación en un dispositivo de inhalación como por ejemplo en el Novolizer®.

REIVINDICACIONES

1. Combinación de R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables para uso en el tratamiento de enfermedades respiratorias, que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial, EPOC o resfríado común.

2. Combinación para uso según la reivindicación 1, donde la dosis diaria del inhibidor de leucotrieno es de 1 a 100 mg, preferiblemente de 5 a 20 mg.

3. Combinación para uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la dosis diaria de R,R-glicopirrolato es de 1 a 500 µg.

4. Combinación para uso según la reivindicación 1 ó 2, donde la dosis diaria de R,R-glicopirrolato es de 5 a100 µg.

5. Producto farmacéutico para uso en el tratamiento de enfermedades respiratorias, que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial, EPOC o resfríado común que contienen R,R-glcopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables.

6. Producto farmacéutico para uso según la reivindicación 5, donde los principios activos están disponibles fácilmente mezclados en una combinación fija, si es apropiado junto con excipientes, adyuvantes, y aditivos en una forma farmacéutica adecuada para aplicación inhalada.

7. Producto farmacéutico para uso según la reivindicación 5, donde los principios activos están disponibles en envases unitarios separados donde ambos principios se pueden aplicar a partir de envases unitarios separados de tal forma que están disponibles para aplicación inhalatoria simultánea.

8. Producto farmacéutico para uso según la reivindicación 7, donde los principios activos se pueden aplicar independientemente uno del otro.

9. Producto farmacéutico para uso según una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por ser un aerosol inhalable con o sin propelente.

10. Producto farmacéutico para uso según una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por ser un polvo seco inhalable.

11. Producto farmacéutico para uso según una de las reivindicaciones 6 a 8, caracterizado por ser una suspensión o solución inhalable.

12. Producto farmacéutico para uso según cualquiera de las reivindicaciones 6 a 8, presentado en un inhalador.

13. Uso de R,R-glicopirrolato o sus sales fisiológicamente aceptables y montelukast o sus sales fisiológicamente aceptables para la producción de un producto farmacéutico para el tratamiento de enfermedades respiratorias que incluyen rinitis alérgica, asma bronquial, EPOC o resfriado común en mamíferos.

14. Uso según la reivindicación 13, caracterizado porque los mamíferos son gatos, perros, o caballos.

15. Uso según la reivindicación 13, donde las enfermedades están caracterizadas por un componente obstructivo o inflamatorio subyacente como asma y enfermedad obstructiva crónica (EPOC).