

SIB EX5467R

ACT5185SMETD1

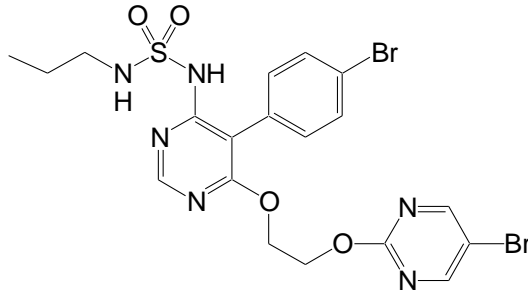
Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo
domanda n° 17191033.4, pubblicazione n° 3300729
a nome di Actelion Pharmaceuticals Ltd
di Gewerbestrasse 16, 4123 Allschwil, Svizzera

“COMPOSIZIONI TERAPEUTICHE CONTENENTI MACITENTAN”

Jacopo de Benedetti
USBM-043R B

DESCRIZIONE

La presente invenzione riguarda un prodotto contenente macitentan, ovvero il composto della formula (I) sottostante



(I)

o un sale farmaceuticamente accettabile di questo composto, in combinazione con almeno un composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), come definito nelle rivendicazioni, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, e riguarda inoltre questo prodotto per uso terapeutico, simultaneamente, separatamente o lungo un periodo di tempo, nel trattamento di una malattia in cui è coinvolta l'endotelina, nello specifico l'ipertensione polmonare.

La pubblicazione PCT WO 02/053557 descrive antagonisti dei recettori per le endoteline, tra cui il composto di formula (I), e l'uso di detti antagonisti dei recettori per le endoteline nel trattamento di varie malattie in cui è coinvolta l'endotelina (ovvero scompenso cardiaco, angina pectoris, ipertensione polmonare e sistemica, e disfunzione erettile).

Dei composti aventi proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) sono stati segnatamente descritti nei seguenti documenti:

- ❖ US 4.683.330 descrive il composto treprostinil e suoi sali e analoghi;
- ❖ US 4.539.333 descrive epoprostenolo sodico;
- ❖ US 4.692.464 descrive il composto iloprost e suoi sali e analoghi;
- ❖ US 4.474.802 descrive il composto beraprost e suoi sali e analoghi;
- ❖ US 7.205.302 descrive, tra le altre cose, derivati 5,6-difenilpirazinici aventi proprietà di agonista dei

recettori per le prostaciline (IP), e loro sali e analoghi, in particolare i composti noti con i nomi in codice MRE-269 ed NS-304 (K. Kuwano et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.* (2007), **322**(3), 1181-1188).

Inoltre, WO 2004/017993 descrive l'uso dell'antagonista dei recettori per le endoteline bosentan insieme all'agonista dei recettori per le prostaciline epoprostenolo sodico per il trattamento dell'ipertensione arteriosa polmonare.

La richiedente ha ora scoperto che, combinando il macitentan con un composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), si ottiene un forte effetto sinergico nel trattamento di malattie in cui è coinvolta l'endotelina. Inoltre, ci si aspetta una diminuzione dei possibili effetti collaterali associati ai composti aventi proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) (ad esempio vampate o ipotensione sistemica).

Un primo oggetto di questa invenzione riguarda dunque un prodotto contenente macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, e almeno un (e preferibilmente solo un) composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

Un ulteriore oggetto di questa invenzione è un prodotto contenente macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in combinazione con almeno un (e preferibilmente solo un) composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per uso terapeutico, simultaneamente, separatamente o lungo un periodo di tempo, nel trattamento di una malattia in cui è coinvolta l'endotelina.

I seguenti paragrafi forniscono definizioni dei vari termini adottati nella presente domanda di brevetto e si, intendono valere uniformemente in tutta la descrizione dettagliata e in tutte le rivendicazioni, a meno che una definizione espressamente formulata in altro modo non fornisca una definizione più ampia o più stretta.

Macitentan è la DCI (Denominazione Comune Internazionale) raccomandata per il composto di formula (I) e, pertanto, questo nome verrà usato per designare il composto di formula (I) nella presente domanda di brevetto.

Nella presente domanda, "simultaneamente" o "simultaneo", quando riferito ad un uso terapeutico, significa che l'uso terapeutico in questione prevede di somministrare due o più ingredienti attivi attraverso la stessa via e allo stesso tempo.

Nella presente domanda, "separatamente" o "separato", quando riferito ad un uso terapeutico, significa che l'uso terapeutico in questione prevede di somministrare due o più ingredienti attivi approssimativamente allo stesso tempo e attraverso almeno due vie differenti.

Nella presente domanda, una somministrazione terapeutica "lungo un periodo di tempo" intende la somministrazione di due o più ingredienti in tempi differenti e, in particolare, intende un metodo di somministrazione secondo cui l'intera somministrazione di uno degli ingredienti attivi viene completata prima che abbia inizio la somministrazione dell'altro o degli altri. In questo modo, è possibile somministrare uno degli ingredienti attivi per diversi mesi prima di somministrare l'altro ingrediente o gli altri ingredienti attivi. In questo caso, non si ha alcuna somministrazione simultanea. Un'altra somministrazione terapeutica lungo un periodo di tempo prevede di somministrare nel tempo due o più ingredienti attivi della combinazione usando differenti frequenze di somministrazione per ciascuno degli ingredienti attivi, nel qual caso, in certi punti nel tempo, tutti gli ingredienti attivi della combinazione vengono somministrati simultaneamente, mentre, in alcuni altri punti nel tempo, è possibile che solo una parte degli ingredienti attivi della combinazione venga somministrata (ad esempio, nel caso di una combinazione di macitentan con NS-304, la somministrazione terapeutica lungo un periodo di tempo potrà prevedere di somministrare il macitentan una volta al giorno e, invece, di somministrare NS-304 due volte al giorno).

Con "malattia in cui è coinvolta l'endotelina" si intende in particolare ipertensione, ipertensione polmonare (tra cui ipertensione arteriosa polmonare), arteriopatia diabetica, scompenso cardiaco, disfunzione erettile, angina pectoris o fibrosi polmonare.

Con "composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP)" si intende un composto che, quando sottoposto al "Test per la determinazione di EC₅₀ dell'agonista del recettore della prostacilina (IP)" descritto nella presente domanda di brevetto, ha un valore di EC₅₀ uguale a, o minore di, 500 nM.

Esempi specifici di composti aventi proprietà di agonista del recettore della prostacilina (IP) includono Treprostinil e i suoi sali farmaceuticamente accettabili, ilprost e suoi sali farmaceuticamente accettabili, beraprost e suoi sali farmaceuticamente accettabili, 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-

(metilsolfonil)acetammide (NS-304) e suoi sali farmaceuticamente accettabili, e acido {4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}acetico (MRE-269) e suoi sali farmaceuticamente accettabili.

Il termine "sali farmaceuticamente accettabili" identifica sali per aggiunta di acido e/o di base che sono inorganici od organici e atossici. È possibile fare riferimento a "Salt selection for basic drugs", *Int. J. Pharm.* (1986), **33**, 201-217.

Inoltre, resta inteso che qualsiasi riferimento al macitentan o ad un composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) identifica anche, laddove opportuno e conveniente, i suoi sali farmaceuticamente accettabili.

Preferibilmente, il prodotto secondo questa invenzione sarà tale per cui il macitentan e il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) sono indicati per un uso terapeutico che avviene simultaneamente o lungo un periodo di tempo.

Secondo una variante preferita di questa invenzione, il macitentan e il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) saranno indicati per essere somministrati simultaneamente.

Secondo un'altra variante preferita di questa invenzione, il macitentan e il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) saranno indicati per essere somministrati lungo un periodo di tempo.

Il periodo di tempo indicato per l'uso terapeutico di un prodotto secondo questa invenzione sarà almeno una settimana e, preferibilmente, almeno uno o più mesi (ad esempio sei mesi). Questo periodo di tempo può anche essere l'intera vita del paziente che riceve il prodotto. Secondo una particolare modalità di somministrazione secondo questa invenzione, la somministrazione del macitentan verrà alternata con la somministrazione di un composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), e l'intervallo tra tali somministrazioni non supererà due o tre giorni (e, più preferibilmente, non supererà un giorno). Secondo un'altra particolare modalità di somministrazione secondo questa invenzione, nel caso di una combinazione di macitentan con NS-304, la somministrazione terapeutica lungo un periodo di tempo potrà essere tale per cui il macitentan verrà somministrato una volta al giorno, mentre NS-304 verrà somministrato due volte al giorno.

Preferibilmente, il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) sarà selezionato da

2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide (NS-304) e suoi sali farmaceuticamente accettabili, e acido {4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}acetico (MRE-269) e suoi sali farmaceuticamente accettabili. Secondo l'invenzione, il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP) è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide (NS-304) o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

La via di somministrazione del macitentan e quella del composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP) sono preferibilmente identiche. In particolare, la via di somministrazione comune per il macitentan e per il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP) sarà la via orale.

Anche se le dosi esatte di somministrazione di un prodotto secondo questa invenzione dovranno essere determinate dal medico curante, ci si aspetta che sarà appropriata una dose da 0,05 a 2 mg (e preferibilmente da 0,1 a 1 mg) di macitentan per kg di peso corporeo del paziente al giorno. Analogamente, ci si aspetta che sarà appropriata una dose da 0,5 a 30 µg (e preferibilmente da 1,5 a 15 µg) di composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP) per kg di peso corporeo del paziente, data due volte al giorno.

Preferibilmente, la malattia indicata per il trattamento con un prodotto secondo questa divulgazione sarà selezionata da ipertensione, ipertensione polmonare, arteriopatia diabetica, scompenso cardiaco, disfunzione erettile, angina pectoris e fibrosi polmonare. Più preferibilmente, la malattia indicata per il trattamento con un prodotto secondo questa divulgazione sarà selezionata da ipertensione e ipertensione polmonare. In particolare, la malattia indicata per il trattamento con un prodotto secondo questa invenzione è ipertensione polmonare (e, segnatamente, ipertensione arteriosa polmonare).

L'invenzione riguarda anche una composizione farmaceutica che, come principi attivi, contiene macitentan, o un sale farmaceuticamente accettabile di questo composto, in combinazione con almeno un (e preferibilmente solo un) composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP), come definito nelle rivendicazioni, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, e che contiene inoltre almeno un eccipiente.

Inoltre, ovviamente, le preferenze indicate per il prodotto secondo questa invenzione valgono, *mutatis mutandis*, anche per le composizioni farmaceutiche e gli usi di questa invenzione.

Nei seguenti esempi, che servono ad illustrare l'invenzione in maggiore dettaglio, vengono descritte particolari forme di realizzazione dell'invenzione.

ESEMPI

Per illustrare l'utilità di questa invenzione, è possibile studiare l'associazione del macitentan, somministrato per via orale ad una dose di 10 mg/kg al giorno, con NS-304, somministrato per via orale ad una dose di 1 mg/kg due volte al giorno, in due differenti modelli di ipertensione, ovvero il modello di ipertensione polmonare da monocrotalina nel ratto e il modello del ratto spontaneamente iperteso. Ovviamente, è possibile esaminare altre associazioni in maniera simile. I protocolli utilizzabili sono forniti qui sotto in dettaglio nella parte intitolata "Proprietà farmacologiche dei composti inventivi".

PROPRIETÀ FARMACOLOGICHE DEI COMPOSTI INVENTIVI

Metodi sperimentali:

Per mostrare le proprietà farmacologiche dei composti inventivi, è possibile adoperare i metodi sperimentali descritti qui sotto.

Modello di ipertensione polmonare da monocrotalina nei ratti

I ratti maschi Wistar vengono acquistati da Harlan (Paesi Bassi) e mantenuti in condizioni conformi alle direttive locali (ufficio veterinario cantonale di Basel-Landschaft). Tutti i ratti vengono alloggiati in condizioni climatiche controllate con un ciclo luce:buio di 12:12 ore, e hanno libero accesso a cibo e acqua. Sotto anestesia per inalazione di isoflurano al 2,5% (in 70% di O₂ + 30% di N₂O), viene impiantato un sistema telemetrico. In condizioni asettiche, viene impiantato un trasmettitore di pressione a radiofrequenza nella cavità peritoneale, e viene inserito un catetere di rilevamento nell'arteria polmonare. Il trasmettitore viene suturato alla muscolatura addominale, e la pelle viene chiusa. Una piattaforma ricevente trasforma il segnale radio in un input digitalizzato che viene inviato ad un personal computer dedicato (Compaq, Deskpro). Le misurazioni della pressione sanguigna arteriosa polmonare vengono calibrate usando un input proveniente da un riferimento a pressione ambiente. Le unità telemetriche vengono ottenute da Data Sciences (St. Paul, MN, USA). La monocrotalina (MCT; Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA) viene somministrata come una singola iniezione sottocutanea (sc)

(60 mg/kg) in un volume di 3 ml/kg, con ratti di controllo di pari età che ricevono un volume uguale di soluzione salina.

Variante 1: valutazione degli effetti cronici:

Gli animali vengono assegnati ai gruppi sperimentali a caso, e il trattamento viene iniziato entro 24 h dall'iniezione di MCT, per una durata di 4 settimane. Il macitentan e il composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) vengono somministrati per via orale. Gli effetti del macitentan, del composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) e della loro combinazione sulla pressione sanguigna arteriosa polmonare vengono misurati raccogliendo i dati ad intervalli di 5 minuti. Per ogni ratto vengono calcolate le medie orarie della pressione arteriosa polmonare. Al termine della registrazione, i ratti vengono sacrificati. Il cuore viene rimosso e pesato, e viene calcolato il rapporto tra il peso dell'organo e il peso corporeo (BW). Il ventricolo destro (RV) e il ventricolo sinistro più il setto vengono separati e pesati; il rapporto RV/BW viene usato come indice dell'ipertrofia ventricolare destra. Più il rapporto RV/BW è basso, più forte è l'effetto dello/degli articoli esaminati nella riduzione dell'ipertrofia ventricolare destra.

Variante 2: valutazione degli effetti in acuto:

Quattro settimane dopo l'iniezione di MCT, i ratti manifestano ipertensione polmonare, e i rispettivi effetti di una singola somministrazione orale di macitentan, del composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP) e della loro combinazione possono essere valutati in base alla pressione arteriosa polmonare media.

Modello del ratto spontaneamente iperteso

Viene usato lo stesso protocollo del modello di ipertensione polmonare da monocrotalina nei ratti, eccetto per il fatto che i ratti trattati con monocrotalina vengono sostituiti con ratti spontaneamente ipertesi (SHR). I ratti SHR vengono acquistati da Harlan (Paesi Bassi).

Test per determinare l'EC₅₀ per un agonista dei recettori per le prostaciline (IP):

Delle cellule CHO che esprimono stabilmente il recettore IP umano vengono coltivate in terreno F-12 di Ham contenente siero fetale bovino 10% in un'atmosfera umidificata di 95% di aria e 5% di CO₂ a 37°C. Le cellule

vengono seminate a 1×10^5 cellule/pozzetto in piastre a 24 pozzetti, e vengono coltivate per 48 h. Dopo un lavaggio e un'incubazione con tampone di saggio per 1 h a 37°C , le cellule vengono esposte a varie concentrazioni del composto di test in presenza di IBMX ($500 \mu\text{M}$). Dopo la rimozione del sovrantante, la reazione viene arrestata aggiungendo acido perclorico $0,2 \text{ M}$. Le cellule aderenti vengono congelate per 2 h a -80°C , e vengono scongelate per estrarre il cAMP intracellulare. I sovrantanti vengono raccolti in provette, neutralizzati con una soluzione di KHCO_3 2M , e centrifugati a 14.000g per 10 min. a 4°C in modo da ottenere campioni per la misurazione dei livelli di cAMP attraverso un sistema EIA. Il contenuto proteico dei detriti cellulari che aderiscono alle piastre di coltura viene misurato prima di solubilizzarli in una soluzione di NaOH 1N . I livelli di cAMP vengono espressi come pmol di cAMP/mg di proteina. Il valore di EC_{50} viene determinato mediante analisi di regressione non lineare delle curve concentrazione-risposta, ed è definito come il logaritmo negativo della concentrazione del composto di test che suscita una risposta corrispondente a metà dell'effetto massimo osservato.

Risultati sperimentali:

ESEMPIO 1: effetto in acuto di macitentan, di NS-304 e della loro combinazione sulla pressione arteriosa polmonare media nei ratti trattati con monocrotalina:

Gli esperimenti sono stati condotti su ratti Wistar maschi con ipertensione polmonare trattati con monocrotalina secondo il modello con monocrotalina descritto nella sezione "Modello di ipertensione polmonare da monocrotalina nei ratti" della parte intitolata "Metodi sperimentali".

25 - 30 giorni dopo il trattamento con monocrotalina, sono stati formati e studiati quattro gruppi di 6 ratti:

- il primo gruppo [non è stato trattato né con macitentan né con NS-304 (gruppo di controllo)];
- il secondo gruppo [è stato trattato con macitentan da solo (10 mg/kg per os)];
- il terzo gruppo [è stato trattato con NS-304 da solo (30 mg/kg per os)];
- il quarto gruppo [è stato trattato con una combinazione di macitentan (10 mg/kg per os) ed NS-304 (30 mg/kg per os)].

La pressione arteriosa polmonare media è stata misurata nel tempo. La relazione tra la pressione arteriosa

polmonare media e il tempo è stata rappresentata su un grafico. Per ogni gruppo di ratti è stata calcolata l'area sottesa dalla curva (AUC) dopo la somministrazione orale del/dei differenti trattamenti (trovando un'area positiva in caso di aumento della pressione sanguigna arteriosa polmonare media e trovando un'area negativa in caso di diminuzione della pressione sanguigna arteriosa polmonare media). I risultati così ottenuti sono riepilogati qui sotto nella Tabella 1.

Gruppo di ratti [trattamento]	AUC
Gruppo 1 [controllo: nessun trattamento]	106 ± 134
Gruppo 2 [trattamento con macitentan (10 mg/kg per os)]	-381 ± 147
Gruppo 3 [trattamento con NS-304 (30 mg/kg per os)]	-99 ± 128
Gruppo 4 [trattamento con macitentan (10 mg/kg per os) ed NS-304 (30 mg/kg per os)]	-758 ± 164

Tabella 1

Questi dati, ottenuti nel modello di ipertensione arteriosa polmonare da monocrotalina, confermano l'effetto sinergico di una combinazione di macitentan con NS-304 nel trattamento di ratti già sottoposti ad una somministrazione di monocrotalina.

RIVENDICAZIONI

- 1.** Macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso nel trattamento dell'ipertensione polmonare, in cui il macitentan deve essere somministrato in combinazione con un composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP), che è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide o un suo sale farmaceuticamente accettabile.
- 2.** Macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso in combinazione con 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide secondo la rivendicazione 1, in cui macitentan e 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide sono da somministrarsi per via orale.
- 3.** Macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso in combinazione con 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui macitentan deve essere somministrato una volta al giorno, e 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide deve essere somministrato due volte al giorno.
- 4.** Macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso in combinazione con 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 3, in cui detta ipertensione polmonare è ipertensione polmonare arteriosa.
- 5.** Composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP), che è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso nel trattamento dell'ipertensione polmonare, in cui 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide deve essere somministrato in combinazione con macitentan, o un suo sale farmaceuticamente accettabile.
- 6.** Composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostacicline (IP), che è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide, o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso in combinazione con macitentan secondo la rivendicazione 5, in cui 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-N-(metilsolfonil)acetammide e macitentan devono essere somministrati per via

orale.

7. Composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), che è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-*N*-(metilsolfonil)acetammide, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per l'uso in combinazione con macitentan secondo la rivendicazione 5 o 6, in cui 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-*N*-(metilsolfonil)acetammide deve essere somministrato due volte al giorno e il macitentan deve essere somministrato una volta al giorno.

8. Composto avente proprietà di agonista dei recettori per le prostaciline (IP), che è 2-{4-[(5,6-difenilpirazin-2-il)(isopropil)ammino]butossi}-*N*-(metilsolfonil)acetammide, o un suo sale farmaceuticamente accettabile per l'uso in combinazione con macitentan secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 5 a 7, in cui detta ipertensione polmonare è ipertensione polmonare arteriosa.