

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

N.º 97.062

REQUERENTE: PFIZER INC., norte-americana, industrial,
235 East 42nd Street, New York, Estados
Unidos da América do Norte

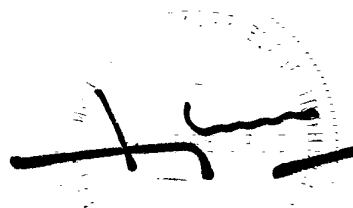
EPÍGRAFE: "MÉTODO PARA A UTILIZAÇÃO DE TENIDAP COMO
INIBIDOR DA LIBERTAÇÃO DE ELASTASE POR
NEUTROFILOS"

INVENTORES: LELAND DAVID LOOSE

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris
de 20 de Março de 1883.

19 de Março de 1990 No.07/495,888, nos Estados Unidos da
América do Norte

97.062



PFIZER INC.

"MÉTODO PARA A UTILIZAÇÃO DE TENIDAP COMO INIBIDOR DA LIBERTAÇÃO DE ELASTASE POR NEUTRÓFILOS"

=====

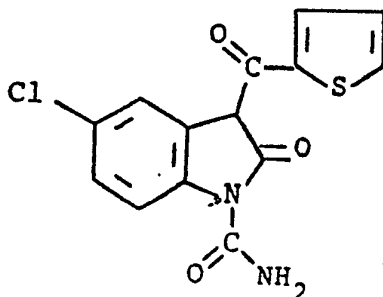
MEMÓRIA DESCRITIVA

Resumo:

O presente invento diz respeito à utilização de tenidap, 5-cloro-2,3-di-hidro-2-oxo-3-(2-tienilcarbonil)-indole-1-carboxamida e dos seus sais com bases farmacêuticamente aceitáveis para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero. Este invento diz também respeito à utilização de tenidap e dos seus sais para o tratamento de doenças e disfunções mediadas pela elastase, tais como artrite, proteinúria e efisema pulmonar em mamíferos. Os métodos de acordo com este invento compreendem a administração de uma quantidade eficaz de tenidap ou dos seus sais a um mamífero.

Este invento diz respeito à utilização de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero. Tenidap e os seus sais são úteis para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero, per se, e para tratar doenças e disfunções mediadas pela elastase num mamífero. Tais doenças e disfunções mediadas pela elastase incluem artrite, proteinúria e efisema pulmonar, embora não estejam a elas limitadas. A utilização de tenidap e dos seus sais inclui a administração de uma sua quantidade eficaz a um mamífero.

Tenidap, 5-cloro-2,3-di-hidro-2-oxo-3-(2-tienilcarbonyl)-indole-1-carboxamida, tem a seguinte fórmula estrutural:



Tenidap é, entre outras 3-substituídas-2-oxindole-1-carboxamidas, revelado e reivindicado na Patente dos E.U.A. 4,556,672 que é atribuída àquele a quem é atribuída a presente. Essa patente revela que esse compostos, para além de serem úteis como agentes anti-inflamatórios e analgésicos, são agentes inibidores tanto da ciclooxigenase (CO) como da lipoxigenase (LO). Os ensinamentos dessa patente são aqui incluídos a título de referência.

A utilização de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis, entre outras

3-substituídas-2-oxindole-1-carboxamidas, para inibir a síntese de interleuquina-1 num mamífero e para tratar doenças e disfunções mediadas por interleuquina-1 é revelada na patente dos E.U.A. 4,861,794 que é atribuída àquele a quem é atribuída a presente.

A Patente dos E.U.A. 4,853,409, atribuída àquele a quem é atribuída a presente, revela a utilização de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis, entre outras 3-substituídas-2-oxindole-1-carboxamidas, para suprimir a função de células-T num mamífero e para tratar doenças autoimunitárias mediadas por células-T do tipo sistémico ou órgão-específicas.

Uma forma anidra, cristalina do sal de sódio de tenidap é revelada no Pedido de Patente Europeia 277,738, que foi apresentado em nome daquele a quem foi atribuída a presente.

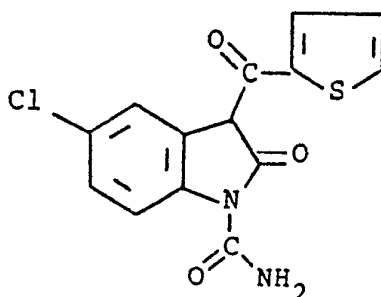
A elastase é uma protease que é libertada por neutrófilos num mamífero e que medeia certas doenças e disfunções. [Janoff, A., American Journal of Pathology 68:579-591 (1972).] Tais doenças e disfunções mediadas por elastase incluem artrite, proteinúria e efisema pulmonar, embora não estejam a elas limitadas [Janoff, A., op. cit. e Johnson, R.J., et al., J. Exp. Med 168:1169-1174 (1988)].

Até ao presente invento, não existiam relatos de qualquer utilização ou intenção de utilizar tenidap ou os seus sais para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero e para tratar doenças e disfunções mediadas por elastase com tais compostos, nem existia qualquer avaliação do seu papel em tais tratamentos.

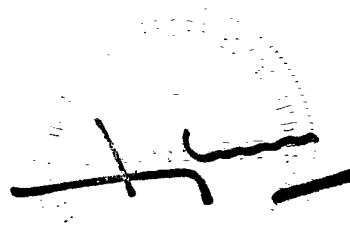
Descobriu-se que tenidap e os seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis inibem a libertação de elastase por neutrófilos e são úteis para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero, per se, e no tratamento de doenças e disfunções mediadas por elastase. Tais doenças e disfunções mediadas por elastase incluem artrite, proteinúria e efisema pulmonar, embora não estejam a elas limitadas.

Os métodos de utilização de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis compreendem a administração a um mamífero de uma sua dose eficaz. A administração pode incluir qualquer método conhecido de fornecimento terapêutico de um composto a um mamífero, tal como administração por via oral ou parentérica tal como adiante se definem.

Tenidap, que possui a seguinte estrutura química

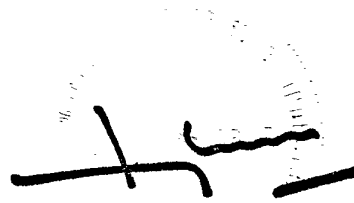


os seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis e as suas preparações são descritos na Patente dos E.U.A. 4,556,672, os ensinamentos da qual são aqui incorporados a título de referência. Este invento diz respeito a novas utilizações de tenidap e dos seus sais que incluem métodos para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero necessitando daqueles. Estão também incluídos no âmbito deste invento métodos de



tratamento de doenças e disfunções mediadas por elastase num mamífero que incluem, artrite, proteinúria e efisema pulmonar, embora não estejam a elas limitadas.

Tal como se revela na patente dos E.U.A. 4,556,672, ténidap tem carácter ácido e forma sais com bases. Todos esses sais de base estão abrangidos pelo âmbito do invento e podem ser formados tal como se explica nessa patente. Sais adequados, no âmbito do invento, incluem tantos os de tipo orgânico como de tipo inorgânico e incluem, embora não se restrijam a eles, os sais formados com amónia, aminas orgânicas, hidróxidos de metais alcalinos, carbonatos de metais alcalinos, bicarbonatos de metais alcalinos, hidretos de metais alcalinos, alcóxidos de metais alcalinos, hidróxidos de metais alcalino-terrosos, carbonatos de metais alcalino-terrosos, hidretos de metais alcalino-terrosos e alcóxidos de metais alcalino-terrosos. Exemplos representativos de bases que formam tais sais de base incluem amónia, aminas primárias, tais como n-propilamina, n-butilamina, anilina, ciclohexilamina, benzilamina, p-toluidina, etanolamina e glucamina; aminas secundárias, tais como dietilamina, dietanolamina, N-metilglucamina, N-metilanilina, morfolina, pirrolidina e piperidina; aminas terciárias, tais como trietilamina, trietanolamina, N,N-dimetilanilina, N-etilpiperidina e N-metilmorfolina; hidróxidos, tal como hidróxido de sódio; alcóxidos, tais como etóxido de sódio e metóxido de potássio; hidretos, tais como hidreto de cálcio e hidreto de sódio; e carbonatos, tais como carbonato de potássio e carbonato de sódio. São sais preferidos os de sódio, potássio, amónio, etanolamina, dietanolamina e trietanolamina. O sal de sódio é particularmente preferido. O Pedido de Patente Europeia 277,738, que foi apresentado em nome daquele a quem é atribuída a presente, revela uma forma anidra, cristalina deste sal. Os ensinamentos dessa patente são aqui incorporados a título de referência.

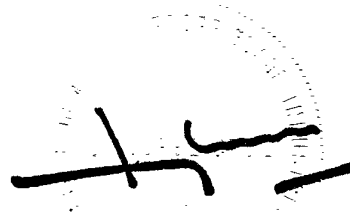


- 6 -

Estão também incluídos no âmbito deste invento os solvatos tais como os hemi-hidratos e mono-hidratos dos compostos atrás descritos.

Os métodos deste invento compreendem a administração de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis a um mamífero. Esses compostos e os seus sais podem ser administrados ao referido mamífero quer isoladamente, quer, e preferencialmente, em combinação com veículos ou diluentes farmacêuticamente aceitáveis numa composição farmacêutica, segundo práticas farmacêuticas convencionais. Uma tal administração pode ser oral ou parentérica. A designação administração parentérica, tal como é aqui utilizada, inclui administração intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutânea, transdérmica e tópica, incluindo mas não se limitando a essas formas, inalação e lavagem oral, embora não esteja limitada a esses tipos de administração. Embora, e de um modo geral, seja preferível administrar tais compostos e os seus sais por via oral, outros métodos podem ser preferíveis, de acordo com a doença ou disfunção mediada por elastase a ser tratada.

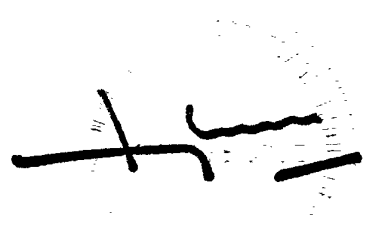
De um modo geral, tenidap e os seus sais são administrados de modo desejável em doses variando entre cerca de 20 mg e cerca de 200 mg por dia, com uma gama de valores preferida entre cerca de 40 mg e cerca de 120 mg por dia, para administração por via oral, e entre cerca de 1 mg e cerca de 200 mg por dia para administração por via parentérica, embora existam ainda assim e necessariamente variações em função do peso do organismo a ser tratado. A dose apropriada para inibir a libertação de elastase por neutrófilos num mamífero e para o tratamento de doenças e disfunções mediadas por elastase com tenidap e os seus sais será facilmente determinada pelos especialistas na técnica de receitar e/ou administrar tais compostos. Todavia, deve ter-se em conta



- 7 -

que outras variações podem também ter lugar quanto a este aspecto, dependendo da espécie de mamífero a ser tratada e da sua resposta individual ao referido medicamento, bem como do tipo particular de formulação farmacêutica escolhido e do período de tempo durante o qual e dos intervalos a que se processa essa administração. Nalguns casos, níveis de dosagem inferiores ao limite mais baixo do intervalo de valores atrás referido podem ser mais do que adequados, enquanto que noutros casos podem ser usadas doses ainda maiores sem que por isso surjam quaisquer efeitos secundários perniciosos ou nocivos, desde que esse níveis de dosagem mais elevados sejam primeiro divididos em várias doses mais pequenas que são administradas ao longo do dia.

Para efeitos de administração oral, podem utilizar-se comprimidos contendo excipientes tais como citrato de sódio, carbonato de cálcio e fosfato dicálcico, juntamente com diversos agentes de desintegração tais como amido e de preferência amido de batata ou tapioca, ácido alginico e certos silicatos complexos, em conjunto com agentes de ligação tais como polivinilpirrolidona, sucrose, gelatina e acácia. Adicionalmente, são muitas vezes úteis para efeitos de produção de comprimidos agentes lubrificantes tais como estearato de magnésio, sulfato de sódio e laurilo e talco, embora a lista não se limite a estes. Composições sólidas de tipo análogo podem também ser usadas como agentes de enchimento em cápsulas de gelatina moles, elásticas e rígidas; materiais preferidos quanto a este aspecto incluem também, a título de exemplo mas sem que tal deva ser visto como uma limitação, lactose ou açúcar do leite bem como glicóis de polietileno de elevada massa molecular. Quando se desejam suspensões e/ou elixires aquosos para efeitos de administração oral, o ingrediente activo essencial pode ser combinado com vários agentes edulcorantes e aromatizantes, material corante ou corantes e, caso seja desejado, agentes emulsionantes e/ou agentes de suspensão,

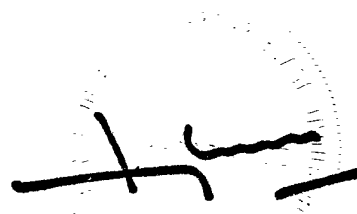


- 8 -

juntamente com diluentes tais como água, etanol, glicol de propileno, glicerina e várias combinações destes.

Embora a via geralmente preferida para a administração de tenidap e dos seus sais de base farmacêuticamente aceitáveis seja a oral, aqueles podem também ser administrados por via parentérica. Esta via de administração parentérica pode constituir o modo de administração preferido para o tratamento de certas doenças ou disfunções mediadas por elastase.

Para efeitos de administração parentérica, podem ser usadas soluções de tenidap ou de um seu sal em óleo de sésamo ou de amendoim ou numa solução aquosa de glicol de propileno, bem como soluções aquosas estéreis dos sais de base solúveis em água correspondentes previamente enumerados. Tais soluções aquosas devem, caso seja necessário, estar adequadamente tamponadas, e o diluente líquido deve ser tornado isotónico com solução salina ou glucose em quantidade suficiente. Estas soluções aquosas específicas são especialmente adequadas para efeitos de injeção intravenosa, intramuscular e subcutânea. Os meios aquosos estéreis usados neste contexto são facilmente obtidos por meio de procedimentos convencionais conhecidas dos especialistas da técnica. Por exemplo, utiliza-se geralmente água destilada como diluente líquido e a preparação final é passada através de um filtro bacteriano adequado tal como um filtro de vidro "sintered glass" ou um filtro de terra de diatomáceas ou de porcelana não vidrada. Os filtros deste tipo preferidos incluem os filtros Berkefeld, Chamberland e Asbestos Disk-Metal Seitz, em que o fluido é sugado para um recipiente estéril através de uma bomba de sucção. Devem ser tomadas as medidas necessárias durante a preparação destas soluções injectáveis de modo a garantir que os produtos finais são obtidos de forma estéril. Para efeitos de administração transdérmica, a forma de dosagem do composto



- 9 -

específico pode incluir, a título de exemplo, soluções, loções, unguentos, cremes, geles, supositórios, formulações de libertação controlada e limitação da taxa e dispositivos para esse fim. Estas formas de dosagem compreendem o composto específico e podem incluir etanol, água, agentes que facilitem a penetração e veículos inertes tais como materiais produtores de gel, óleo mineral, agentes emulsionantes, álcool benzílico e outros análogos. Composições para melhorar o fluxo transdérmico específicas são reveladas no Pedido de Patente Europeia 271,983 e no Pedido de Patente Europeia 331,382, que foram apresentadas em nome daquele a quem é atribuída a presente, cujos ensinamentos são aqui incorporados a título de referência. Para efeitos de administração tópica, a forma de dosagem do composto específico pode incluir, por exemplo e sem que tal deve ser interpretado como constituindo de algum modo uma limitação, soluções, loções, unguentos, cremes e geles. Além disso, a administração por meio de inalação pode ser conseguida por meios e métodos bem conhecidos dos especialistas da técnica. Esses meios incluem a utilização de nebulizadores ou atomizadores mediante os quais uma solução de tenidap ou de um seu sal é inalada sob forma de vaporização.

A capacidade dos compostos deste invento para inibir a libertação de elastase por neutrófilos foi demonstrada pelo procedimento experimental descrito em Dunn, T.L., et al., Analytical Biochemistry 150:18-24 (1985) e nas referências aí citadas. Os neutrófilos para o teste foram obtidos como se segue. Obteve-se sangue humano completo de voluntários normais por meio de venipunctura para seringas heparinizadas. A maior parte dos glóbulos vermelhos foi removida por meio de sedimentação com dextrano e os neutrófilos foram separados por meio de centrifugação de densidade sobre hypaque ficoll. A fracção rica em neutrófilos foi lavada e os glóbulos vermelhos residuais foram

removidos por meio de lise hipotônica segundo o procedimento descrito por Blackburn, W.D. et al., *Arthritis Rheum.* 30:1006-1014 (1987). Os neutrófilos assim preparados foram usados no teste que a seguir se descreve, sendo a viabilidade das células assegurada mediante determinação da sua capacidade para excluir "typan blue". Em cada teste, a viabilidade das células excedia vulgarmente 95%.

O anticorpo anti-elastase de neutrófilos humanos (anti-human neutrophil elastase, ou anti-HNE) purificado relativamente à afinidade foi marcado com ^{125}I -Na sem veículo usando uma modificação do método da lactoperoxidase de Marcheloni, J.J., *Biochem. J.* 113:229-305 (1969). De um modo geral, quantidades de proteína de 10 μg foram marcadas para um valor de actividade específica inicial de $2,2 \times 10^{-5}$ mCi/ng. O iodo livre foi separado de ^{125}I ligado por meio de cromatografia de coluna Sephadex G-25. O anti-HNE marcado com ^{125}I foi dividido em partes alíquotas e armazenado a -70°C durante um período que pode ir até um mês antes de ser usado.

Suspensões celulares de neutrófilos, preparadas tal como atrás se descreveu, foram incubadas a 37°C durante 15-30 minutos na presença de diversas concentrações de tenidap. Tenidap foi dissolvido e diluído em água e adicionado directamente às células a partir daí. De pois de as células terem sido incubadas na presença de tenidap, as suspensões celulares (5×10^6 células/ml, 125 μl /cavidade) foram adicionadas a cavidades revestidas a IgG e bloqueadas com albumina de soro de bovinos (bovine serum albumin, ou BSA) de placas "microtiter" e incubadas durante 45 minutos a 37°C . Como controlos, utilizaram-se incubações semelhantes sem IgG. Após a incubação, as suspensões de células foram centrifugadas ($750 \times g$) durante 5 minutos a 4°C .

Utilizou-se anti-HNE de cabra de fraccção IgG purificado através de celulose D-52 (10 mg/ml), diluído para 1/1000 em PBS, a fim de revestir cavidades de teste de vinilo (125 µl) durante 4 horas a 25°C. As cavidades foram depois bloqueadas com PBS-1% BSA (100 µl) durante 1 hora a 25°C a fim de eliminar ligações não-específicas, lavadas por três vezes com PBS, adicionando-se depois amostras de 100 µl de material sobrenadante obtido tal como atrás se descreveu a cada cavidade e deixando-as incubar durante 16 horas a 25°C. Obtiveram-se curvas padrão com diluições em série da enzima desactivada por DFP (500 µl/ml) em PBS-1% BSA. Após três lavagens com PBS, adicionou-se anti-HNE marcado com ^{125}I purificado relativamente à afinidade a cada cavidade (100 000 cpm/100 µl). As cavidades foram incubadas durante 16 horas a 25°C e lavadas por três vezes com PBS, sendo cada cavidade analisada durante 1 minuto num contador gama. Desenhou-se um gráfico de ^{125}I -anti-HNE (ligado cpm) $\times 10^{-3}$ em função da concentração de proteína em nanogramas por mililitro. Curvas de ligação padrão usando outras proteínas purificadas em vez de HNE foram usadas tal como atrás se descreveu.

REIVINDICAÇÕES:

1ª - Método de inibição da libertação de elastase por neutrófilos num mamífero necessitando de tal inibição caracterizado por compreender a administração a esse mamífero, por exemplo por via oral ou parentérica, de uma quantidade inibidora da libertação de elastase de tenidap ou de um seu sal com bases farmacêuticamente aceitável, em que o ingrediente activo é de preferência administrado em doses que variam desde cerca de 20 mg até cerca de 200 mg, relativamente à administração oral, e desde cerca de 1 mg até cerca de 200 mg por dia, relativamente à administração parentérica.

2ª - Método de tratamento de uma doença ou disfunção num mamífero mediada por elastase, particularmente artrite, proteinúria ou efisema pulmonar, caracterizado por compreender a administração a esse mamífero, por via oral ou parentérica, ou por inalação (particularmente relativamente ao efisema pulmonar), de uma quantidade permitindo tratar uma doença ou disfunção mediada por elastase de tenidap ou de um seu sal com bases farmacêuticamente aceitável, em que o ingrediente activo é de preferência administrado em doses que variam desde cerca de 20 mg até cerca de 200 mg, relativamente à administração oral, e desde cerca de 1 mg até cerca de 200 mg por dia, relativamente à administração parentérica.

Lisboa, 18 de Março de 1991



J. PEREIRA DA CRUZ
Agente Oficial da Propriedade Industrial
RUA VICTOR CORDON, 10-A 3.ª
1200 LISBOA