

(11) Número de Publicação: **PT 1208847 E**

(51) Classificação Internacional:

A61K 38/13 (2006.01) **A61K 31/445** (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01) **A61K 31/70** (2006.01)

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: **1997.07.29**

(30) Prioridade(s): **1996.07.30 GB 9615942**
1997.03.18 GB 9705684

(43) Data de publicação do pedido: **2002.05.29**

(45) Data e BPI da concessão: **2006.10.13**
043/2007

(73) Titular(es):

NOVARTIS AG
LICHTSTRASSE 35 4056 BASEL CH

(72) Inventor(es):

GERHARD ZENKE DE
ARMIN MEINZER DE
BARBARA HAEBERLIN CH
HENDRIK J. SCHUURMAN US

(74) Mandatário:

ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS
RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA PT

(54) Epígrafe: **COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DE TRANSPLANTES, DOENÇAS AUTOIMUNES OU INFLAMATÓRIAS COMPREENDENDO CICLOSPORINA A E 40-O-(2-HIDROXIETIL)-RAPAMICINA**

(57) Resumo:

RESUMO**"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DE TRANSPLANTES, DOENÇAS AUTOIMUNES OU INFLAMATÓRIAS COMPREENDENDO CICLOSPORINA A E 40-O-(2-HIDROXIETIL)-RAPAMICINA"**

É proporcionada uma associação sinérgica de um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., ciclosporina A ou FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, que é útil no tratamento e prevenção da rejeição de transplantes e também certas doenças autoimunes e inflamatórias, bem como novas composições farmacêuticas compreendendo um inibidor de transcrição de IL-2 em associação com uma rapamicina, e.g., 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina.

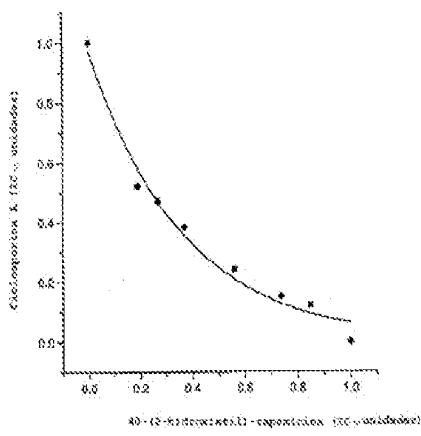


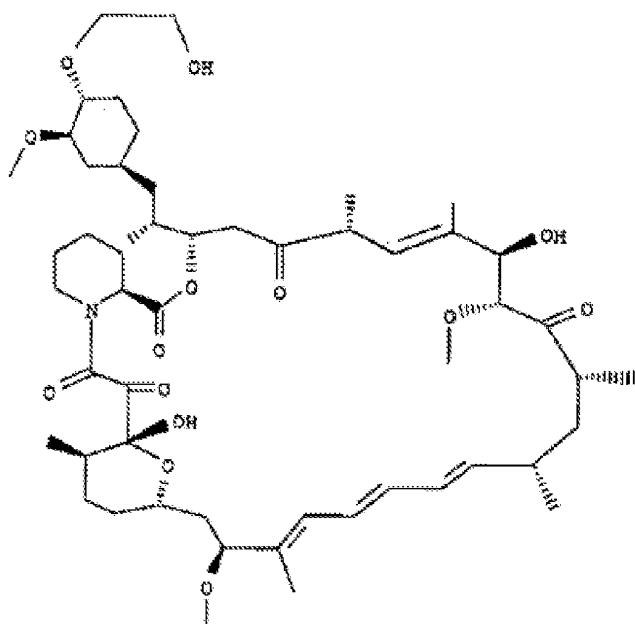
FIGURE 1

DESCRIÇÃO

"COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS PARA O TRATAMENTO DA REJEIÇÃO DE
TRANSPLANTES, DOENÇAS AUTOIMUNES OU INFLAMATÓRIAS
COMPREENDENDO CICLOSPORINA A E 40-O-(2-HIDROXIELIL)-
RAPAMICINA"

Esta invenção relaciona-se com certas composições farmacêuticas novas compreendendo uma rapamicina, e.g., 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, e um inibidor da transcrição de IL-2, em especial FK506, e com associações sinérgicas de um inibidor da transcrição de IL-2 e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

A 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina tem a seguinte estrutura:



Este composto está ainda descrito no WO 94/09010, exemplo 8. A 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina é um derivado semissintético da rapamicina. A estrutura da rapamicina está descrita em Kesseler, H. et al.; 1993; *Helv. Chim. Acta*; **76**:117, e são conhecidos numerosos derivados e análogos imunossupressores da rapamicina. A rapamicina é um imunossuppressor, mas embora tenha sido descoberta pela primeira vez há mais de vinte anos, ainda não chegou ao mercado.

A rapamicina é difícil de formular, sendo fracamente solúvel e com pouca biodisponibilidade oral. O derivado 40-O-(2-hidroxietil) da rapamicina tem propriedades de formulação e farmacocinéticas melhoradas. Contudo, tanto a rapamicina como a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina apresentam efeitos secundários por administração *in vivo* a doses mais elevadas.

A ciclosporina A (também conhecida como ciclosporina) é um undecapéptido cíclico imunossuppressor. A sua estrutura está descrita, e.g., no The Merck Index, 11th Edition; Merck & Co., Inc.; Rahway, New Jersey, EUA (1989) com o número de entrada 2759. As formulações de ciclosporina A estão disponíveis comercialmente com a marca comercial SANDIMMUN ou SANDIMMUNE, e uma formulação de pré-concentrado para microemulsão de ciclosporina A é comercializada com a marca comercial NEORAL ou OPTORAL. A ciclosporina A é amplamente utilizada como um imunossu-

pressor, e.g., na prevenção e tratamento da rejeição de enxertos após o transplante de órgãos e de doença do enxerto contra o hospedeiro, e.g., na sequência do transplante de medula óssea. A dosagens mais elevadas, contudo, pode afectar a função renal e hepática. Além disso, a ciclosporina A é difícil de formular, dado que é essencialmente insolúvel na maioria dos solventes farmaceuticamente aceitáveis, e.g. sistemas farmacêuticos aquosos, e a sua biodisponibilidade oral na maioria das formulações é variável. Finalmente, embora a ciclosporina A seja altamente eficaz na prevenção e tratamento de episódios de rejeição aguda em doentes de transplante e contribua assim para a sobrevivência de enxertos no longo prazo, a rejeição crónica, manifestada como arteriostenose devido a proliferação de músculo liso vascular no enxerto (doença vascular do enxerto), permanece um problema grave para alguns doentes após o transplante, por exemplo recipientes de transplantes do coração. A ciclosporina A, que inibe principalmente as células T, também não é especialmente eficaz para impedir a rejeição mediada por anticorpos como se observa frequentemente na xenotransplantação.

O FK506 é um macrolídeo imunossupressor que poder ser produzido por *Streptomyces tsukubaensis* N° 9993. A estrutura do FK506 está apresentado no apêndice do *Merck Index, supra*, como item A5. O FK506 também é utilizado como imunossupressor. Embora seja estruturalmente muito diferente da ciclosporina A, tem um mecanismo de acção semelhante, i.e., inibição de células T através da supressão de

citoquinas, em especial supressão de IL-2. É um tanto mais potente do que a ciclosporina A, mas também é mais tóxico, e também é difícil de formular, tendo baixa solubilidade e biodisponibilidade e metabolismo variáveis.

Os compostos imunossupressores cuja actividade imunossupressora deriva principalmente ou em parte significativa do facto de inibirem directa ou indirectamente a transcrição do gene de IL-2 (*e.g.*, corticosteróides, ascomicinas e ciclosporinas; em especial ciclosporina A, FK506, e os seus vários derivados e análogos imunossupressores; especialmente compostos que são pelo menos tão activos como a ciclosporina A num ensaio do gene repórter de IL-2) são daqui em diante designados como "inibidores da transcrição de IL-2".

Surpreendentemente verificou-se agora que os inibidores da transcrição de IL-2 e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, em especial ciclosporina A e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, actuam sinergicamente, pelo que se observa imunossupressão eficaz por co-administração em dosagens que individualmente estariam bem abaixo das doses eficazes. Além disso, esta associação sinérgica é útil para tratamento, *e.g.* melhoramento, ou prevenção não só de rejeição aguda, mas também de rejeição crónica e rejeição de xenoenxertos. A co-administração dos dois compostos em quantidades sinergicamente eficazes permite que dosagens significativamente menores de cada composto em imunossupressão, reduzindo assim os efeitos secundários, e por

prevenção da rejeição crónica e da rejeição de xenoenxertos, aumenta a utilidade farmacêutica do tratamento.

A sinergia é calculada como descrito em Berenbaum, *Clin. Exp. Immunol.* (1977) **28**:1, utilizando um termo de interacção para corrigir as diferenças de mecanismo entre os dois fármacos, como descrito em Chou et al., *Transpl. Proc.* (1994) **26**:3043. O índice de sinergia é calculado como

$$\frac{\text{Dose de A} + \text{Dose de B} + (\text{Dose A}) \times (\text{Dose B})}{\text{A}_E \times \text{B}_E}$$

em que as doses dos compostos A e B representam as utilizadas numa associação específica, e A_E e B_E são as doses individuais de A e B respectivamente que produzem o mesmo efeito. Se o resultado for inferior a 1, existe sinergia; se o resultado for 1, o efeito é aditivo; se o resultado for superior a 1, A e B são antagonistas. Como descrito adiante, a ciclosporina A e a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina apresentam um índice de sinergia desde cerca de 0,3 a cerca de 0,7 *in vivo*, e cerca de 0,8 *in vitro*. Por traçado do gráfico de um isobograma da dose de A/ A_E em função da dose de B/ B_E , pode determinar-se a associação com sinergia máxima. A proporção sinérgica expressa em termos da proporção em peso das duas composições em quantidades sinérgicas segundo este isobograma, especialmente no ou próximo do ponto de sinergia máxima, pode então ser utilizada para determinar formulações contendo uma proporção sinérgica optimizada dos dois compostos.

O que é notável é que os inibidores da transcrição de IL-2 e a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina apresentam sinergia em dois níveis. Ao nível mecanístico e.g., como observado nos resultados *in vitro*, a actividade imunossupressora intrínseca dos dois compostos é sinergicamente aumentada por co-administração. Além disso, a nível farmacocinético, os níveis observados no sangue de ambos os compostos por co-administração estão significativamente melhorados em relação aos níveis no sangue conseguidos por administração de cada composto individualmente e correspondentemente, a sinergia observada *in vivo* é ainda maior do que seria previsível com base nos resultados *in vitro*. A sinergia mecanística em associação com a sinergia da interacção farmacocinética é extremamente surpreendente e, de facto, crê-se que esta associação de fármacos é a primeira descrita em que existe sinergia significativa tanto ao nível mecanístico como ao nível farmacocinético. O efeito prático disto na perspectiva do doente é que ambos os fármacos são mais eficazes, a dosagens menores, com menos efeitos secundários, e biodisponibilidade melhorada. Surpreendentemente, é exequível que os fármacos possam ser formulados numa associação fixa, o que aumenta muito a conveniência para o doente.

As indicações para as quais esta associação tem interesse incluem em especial estados autoimunes e inflamatórios e estados associados a ou causadores de rejeição de transplantes, e.g., tratamento (incluindo melhoramento,

redução, eliminação ou cura da etiologia ou sintomas) ou prevenção (incluindo restrição substancial ou completa, profilaxia ou supressão) dos seguintes:

- a) rejeição aguda de transplante de órgãos ou tecidos, e.g. tratamento de recipientes de e.g. transplantes do coração, pulmão, combinados de coração e pulmão, fígado, rim, pâncreas, pele, intestino ou córnea, especialmente prevenção e/ou tratamento da rejeição mediada por células T, bem como doença do enxerto contra o hospedeiro, tal como na sequência do transplante de medula óssea.
- b) Rejeição crónica de um órgão transplantado, em especial prevenção de doença vascular do enxerto, e.g., caracterizada por estenose das artérias do enxerto em consequência do espessamento da íntima devido a proliferação de células de músculo liso e efeitos associados.
- c) Rejeição de xenoenxertos, incluindo a rejeição aguda, hiperaguda ou crónica de um órgão que ocorre quando o doador do órgão é de uma espécie diferente da do recipiente, mais especialmente a rejeição mediada por células B ou rejeição mediada por anticorpos.
- d) Doença autoimune e estados inflamatórios, em especial estados inflamatórios com uma etiologia incluindo um componente imunológico ou autoimune tal como artrite (por exemplo artrite reumatóide, artrite crónica progressiva e artrite deformante) e outras doenças reumáticas. Doenças

autoimunes específicas para as quais pode ser utilizada a associação sinérgica da invenção incluem doenças hematológicas autoimunes (incluindo e.g. anemia hemolítica, anemia aplástica, anemia pura dos glóbulos vermelhos e trombocitopenia idiopática), lupus eritematoso sistémico, policondrite, esclerodomia, granulomatose de Wegener, dermatomiosite, hepatite activa crónica, miastenia grave, psoriase, síndrome de Steven-Johnson, psilose idiopática, doença inflamatória do intestino (autoimune) (incluindo e.g. colite ulcerosa e doença de Crohn), oftalmopatia endócrina, doença de Graves, sarcoidose, esclerose múltipla, cirrose biliar primária, diabetes juvenil (diabetes mellitus de tipo I), uveíte (anterior e posterior), ceratoconjuntivite seca e ceratoconjuntivite vernal, fibrose pulmonar intersticial, artrite psoriática, glomerulonefrite (com e sem síndrome nefrótica, e.g. incluindo síndrome nefrótica idiopática ou nefropatia com alteração mínima) e dermatomiosite juvenil. Os estados autoimunes e inflamatórios da pele também são considerados como susceptíveis de tratamento e prevenção utilizando a associação sinérgica da invenção, e.g., psoriase, dermatite de contacto, dermatite atópica, alopecia areata, eritema multiforme, dermatite herpetiforme, esclerodermia, vitiligo, penfigóide bolhoso, lupus eritematoso, pênfigo, epidermólise e outros estados inflamatórios ou alérgicos da pele, como também os estados inflamatórios dos pulmões e vias respiratórias incluindo asma, alergias e pneumoconiose.

A invenção proporciona assim produtos para co-

administração de um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, em dosagens sinergicamente eficazes, e.g.,

1. A utilização de um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) no fabrico de um medicamento para co-administração em quantidades sinergicamente eficazes com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, e.g., para utilização no tratamento ou prevenção de uma patologia como descrito acima, e.g., uma doença autoimune ou inflamatória, ou rejeição de transplantes, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos.

2. A utilização de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina no fabrico de um medicamento para co-administração em quantidades sinergicamente eficazes com um inibidor de transcrição de IL-2 (e.g., FK506), e.g. para utilização no tratamento ou prevenção de uma patologia como descrito acima, e.g., uma doença autoimune ou inflamatória, ou rejeição de transplantes, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos, com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

3. Um kit de partes que consiste num inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em formas de dosagem unitárias separadas, preferencialmente em que as referidas formas de dosagem unitárias são adequadas para administração dos dois compostos em

quantidades sinergicamente eficazes, conjuntamente com instruções para utilização, e.g. no tratamento ou prevenção de uma patologia como descrito acima, e.g., uma doença auto-imune ou inflamatória, ou rejeição de transplantes, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos, com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2. O kit pode ainda compreender meios para facilitar a conformidade com a administração dos compostos, e.g. uma etiqueta ou desenhos.

4. A utilização de um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) no fabrico de um kit farmacêutico que se destina a ser utilizado para facilitação da co-administração com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

5. A utilização de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina no fabrico de um kit farmacêutico que se destina a ser utilizado para facilitação da co-administração com um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g. FK506), com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

6. Um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina como uma preparação farmacêutica de associação para utilização simultânea, separada ou sequencial, preferencialmente em quantidades sinergicamente eficazes, e.g., para o tratamento ou prevenção de

uma patologia como descrito acima, e.g., uma doença autoimune ou inflamatória, ou rejeição de transplantes, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos, com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

7. Composição farmacêutica compreendendo um inibidor da transcrição de IL-2 (e.g., FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, e.g., em quantidades sinergicamente eficazes, em combinação ou associação com um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável, e.g. para utilização no tratamento ou prevenção de uma patologia como descrito acima, e.g., uma doença autoimune ou inflamatória, ou rejeição de transplantes, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos, com a condição de que está excluída ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

Por "quantidades sinergicamente eficazes" significa-se uma quantidade de inibidor da transcrição de IL-2 e uma quantidade de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina que estão individualmente abaixo das respectivas dosagens eficazes para a indicação relevante, mas que são farmaceuticamente activas por co-administração, e.g., numa proporção sinérgica, por exemplo como calculado acima. Além disso, "quantidades sinergicamente eficazes" pode significar uma quantidade de inibidor da transcrição de IL-2 e uma quantidade de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina que são individualmente iguais às respectivas dosagens eficazes para a indicação relevante, e que resultam em mais do que um efeito aditivo.

A quantidade molar de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina presente é significativamente menos, preferencialmente metade ou menos, do que a quantidade de inibidor da transcrição de IL-2. As proporções sinérgicas de ciclosporina A para 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em peso são por isso com vantagem desde 2:1 a 180: 1, preferencialmente desde 5:1 a 50:1, mais preferencialmente ainda desde 10:1 a 20:1, e.g. cerca de 16:1. As proporções sinérgicas de ciclosporina A para 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em peso são por exemplo 5:1, 6:1, 7:1, 8:1, 9:1, 10:1, 11:1, 12:1, 13:1, 14:1, 15:1, 16:1, 17:1, 18:1, 19:1, 20:1, 21:1, 22:1, 23:1, 24:1, 25:1, 26:1, 27:1, 28:1, 29:1, 30:1, 31:1, 32:1, 33:1, 34:1, 35:1, 36:1, 37:1, 38:1, 39:1, 40:1, 41:1, 42:1, 43:1, 44:1, 45:1, 46:1, 47:1, 48:1, 49:1, 50:1 ou mais do que 50:1, e.g. 60:1.

As dosagens absolutas dos compostos variarão dependendo do indivíduo, da via de administração e da natureza e gravidade da patologia a ser tratada. Por exemplo, na prevenção e tratamento da rejeição de transplantes, é administrada com vantagem uma dosagem inicial de cerca de 2-3 vezes a dosagem de manutenção 4-12 horas antes da transplantação, seguida por uma dosagem diária de cerca de 2-3 vezes a dosagem de manutenção durante um período desde 1-2 semanas, e subsequentemente a dose é gradualmente reduzida a uma taxa de cerca de 5% por semana para atingir a dosagem de manutenção. Em geral, quantidades sinergicamente eficazes de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e ciclosporina A para administração oral para utilização na prevenção e

tratamento da rejeição de transplantes em animais superiores, e.g., no homem, são quantidades de ciclosporina A até 5 mg/kg/dia, e.g., desde 0,5 mg/kg/dia a 3 mg/kg/dia, preferencialmente cerca de 1,5 mg/kg/dia, em associação ou co-administração com quantidades de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina de até 2,5 mg/kg/dia, e.g., desde 0,01 mg/kg/dia a 1 mg/kg/dia, preferencialmente cerca de 0,1 mg/kg/dia, numa proporção sinérgica, tal como descrito. As formas de dosagem unitárias adequadas para co-administração oral destes compostos podem por isso conter da ordem de desde 0,1 a 70 mg, preferencialmente 1,0 a 10,0 mg, de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e desde 1 a 200 mg, preferencialmente 10 a 100 mg de ciclosporina A. A dosagem diária para administração oral é preferencialmente tomada numa dose única, mas pode ser dividida por duas, três ou quatro dosagens por dia. Para administração i.v., a dosagem eficaz é menor do que a necessária para administração oral, e.g. cerca de um terço da dosagem oral. Devido à biodisponibilidade da ciclosporina A e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina estar sujeita a um certo grau de variabilidade individual, pode ser aconselhável medir os níveis da ciclosporina e/ou 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina no sangue, preferencialmente utilizando doseamentos à base de anticorpos monoclonais como são conhecidos na arte para a ciclosporina A e a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, especialmente durante os primeiros meses, de forma a estabelecer uma dosagem de manutenção óptima para o doente específico.

Por "co-administração" significa-se administração

da 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e do inibidor da transcrição de IL-2, e.g., ciclosporina A, conjuntamente ou substancialmente ao mesmo tempo (e.g., dentro de quinze minutos ou menos), no mesmo veículo ou em veículos separados, de modo que por administração oral, por exemplo, ambos os compostos estejam presentes simultaneamente no estômago. Preferencialmente os compostos são administrados como uma associação fixa, e.g., uma formulação farmacêutica de acordo com 4 referido acima.

As composições farmacêuticas de acordo com 5 referido acima incluem composições adequadas para administração por qualquer via convencional, em particular composições adequadas para administração entericamente, e.g. oralmente, por exemplo na forma de soluções para beber, comprimidos ou cápsulas, ou parentericamente, por exemplo na forma de soluções ou suspensões injectáveis. Normalmente para administração sistémica são preferidas formas de dosagem orais, embora para algumas patologias, por exemplo para prevenção da rejeição de transplantes do fígado, seja desejável uma forma injectável intravenosamente. As composições farmacêuticas de acordo com 5 referido acima também incluem composições adequadas para administração tópica e.g., na forma de um creme dérmico, pomada ou gel ou de uma preparação semelhante, especialmente em combinação ou associação com agentes intensificadores da penetração, e.g., para o tratamento de estados autoimunes ou inflamatórios da pele, bem como uma composição na forma de um creme ocular, gel ou preparação em gotas para os olhos, e.g. para fins de

aplicação no olho, e composições inaláveis, *e.g.*, para utilização no tratamento de estados autoimunes ou inflamatórios dos pulmões e vias respiratórias.

As composições farmacêuticas de acordo com 6 referido acima, *e.g.*, para administração oral, são com vantagem emulsões, microemulsões, pré-concentrados para emulsões ou pré-concentrados para microemulsões, ou dispersões sólidas, especialmente pré-concentrados para microemulsões água-em-óleo ou microemulsões óleo-em-água, compreendendo o inibidor da transcrição de IL-2 (*e.g.*, FK506) e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina numa proporção sinérgica.

Um pré-concentrado para emulsão é uma formulação que forma uma emulsão num meio aquoso, *e.g.*, água ou suco gástrico. Uma emulsão é uma dispersão coloidal opaca ou substancialmente opaca que é formada quando os seus componentes são postos em contacto, *e.g.*, uma composição contendo partículas dispersadas de um tamanho maior do que cerca de 2000 Å (200 nm) de diâmetro, *e.g.* como descrito na GB 2 270 842. Um pré-concentrado para microemulsão é uma formulação que forma espontaneamente uma microemulsão num meio aquoso, *e.g.*, água ou suco gástrico. Uma microemulsão é uma dispersão coloidal transparente ou ligeiramente opalescente que é formada espontaneamente ou substancialmente espontaneamente quando os seus componentes são postos em contacto, *e.g.*, uma composição termodinamicamente estável contendo gotículas dispersadas com um tamanho inferior a cerca de 2000 Å (200 nm) de diâmetro, geralmente menos do

que 1500 Å (150 nm), tipicamente desde 30 a 1000 Å (3 a 100 nm), por exemplo como descrito no GB 2 222 770 A.

As composições preferidas são as que têm ciclopamina A e 40-O-(2-hidroxietil)rapamicina numa proporção sinergicamente eficaz num pré-concentrado para microemulsão óleo-em-água ou para microemulsão água-em-óleo capaz de formar uma microemulsão, compreendendo uma fase hidrófila, uma fase lipófila e um tensoactivo, e.g. em que a fase hidrófila, a fase lipófila e o tensoactivo são como descritos na GB 2 222 770, GB 2 257 359 ou no WO 96/13273. A fase hidrófila pode compreender 5 a 50% em peso da composição, e.g. 10 a 50%; preferencialmente 15 a 40% em peso. A fase lipófila pode compreender 5 a 85% em peso da composição, e.g. 10 a 85%; preferencialmente 15 a 70% em peso. O tensoactivo pode compreender 5 a 80% em peso da composição; preferencialmente 10 a 70% em peso.

Os componentes adequados para a fase hidrófila incluem componentes descritos na GB 2 222 770, por exemplo um diéter ou éter parcial C₁₋₅ alquílico ou tetrahidrofurfurílico farmaceuticamente aceitável ou um mono- ou poli-oxi-alcanodiol de baixo peso molecular, e.g. éter monoetílico de dietileno glicol disponível comercialmente com o nome comercial Transcutol, ou éter de polietileno glicol e álcool tetrahidrofurfurílico disponível comercialmente com o nome comercial Glycofurool; ou (especialmente) 1,2-propileno glicol; ou dimetilisossorbido, e pode opcionalmente incluir ainda alcanóis inferiores, e.g., etanol.

Os componentes adequados para a fase lipófila incluem triglicéridos de ácidos gordos de cadeia média, mono-, di- e tri-glicéridos mistos, e óleos vegetais etoxilados transesterificados, especialmente mono-, di- e tri-glicéridos purificados de óleo de milho glicerolizado e.g., isento ou substancialmente isento de glicerol e componentes ácidos gordos saturados, e.g. como descrito e reivindicado na GB 2284615 B.

Numa forma de realização a fase lipófila compreende um produto da transesterificação de óleo de milho e glicerol com um teor de ácidos gordos saturados de mono-, di-, e tri-glicéridos, e com um teor de glicerol inferior a 10% em peso, e.g. menos do que 5% tal como 2% ou menos. O produto de transesterificação compreende

i) desde cerca de 25% a cerca de 50% em peso, e.g. 30% a 40%, de mono-glicéridos; desde cerca de 30% a cerca de 60%, e.g. cerca de 45% a cerca de 55%, em peso de di-glicéridos; e pelo menos 5% em peso de tri-glicéridos, e.g. cerca de 7,5 a cerca de 15%;

ii) um teor de mono-, di- e tri-glicéridos de ácido linoleico, ácido oleico e ácido linolénico de pelo menos 85% em peso; e o teor de ácidos gordos saturados totais de mono-, di-, e tri-glicéridos é inferior a 10% em peso. Numa forma de realização preferida o produto de transesterificação tem um teor de ácido palmítico e ácido

esteárico total de mono, di- e tri-glicéridos inferior a 10% em peso.

Os tensoactivos adequados incluem produtos de reacção de óleos vegetais naturais ou hidrogenados e etileno glicol, e.g., óleos de rícino polietoxilados disponíveis por exemplo com o nome comercial CREMOPHOR (H.P. Fiedler, Lexikon der Hilfsstoffe fur Pharmazie, Kosmetik und angrenzende Gebiete, Vol. 1, 3rd edition, 1989) e.g. CREMOPHOR RH 40 ou EL; ésteres de polioxietileno-glicerol e ácidos gordos, e.g. disponíveis com o nome comercial TAGAT, e.g. TAGAT TO; e ésteres de polioxietileno sorbitano e ácidos gordos, e.g. ésteres mono-, di- e tri-laurílicos, palmitoílicos, estearílicos e oleiílicos do tipo conhecido e disponível com a marca comercial TWEEN, e.g. TWEEN 40 ou TWEEN 80. Estes e outros tensoactivos também estão descritos na GB 2 222 770 e GB 2 257 359.

As composições podem opcionalmente compreender ainda agentes aromatizantes e/ou antioxidantes e.g. α -tocoferol tipicamente numa quantidade desde 0,05% a cerca de 5% em peso, preferencialmente desde cerca de 0,1 a cerca de 1% em peso com base no peso da composição. As composições podem compreender agentes de estabilização ácidos, e.g. ácido malónico, ácido oxálico, ácido cítrico ou ácido láctico e.g. numa quantidade desde 0,05% a cerca de 5% em peso, preferencialmente desde cerca de 0,1 a cerca de 1% em peso com base no peso da composição.

As composições farmacêuticas são preferencialmente preparadas em forma de dosagem unitária, por exemplo por enchimento em recipientes de cápsulas para administração oral. Os recipientes de cápsulas podem ser recipientes de cápsulas de gelatina mole ou dura, As cápsulas de gelatina moles desta invenção podem ser preparadas de acordo com o método descrito na GB 2 282 586. Contudo, se desejado, as composições farmacêuticas podem estar em forma de solução para beber e podem incluir água ou qualquer outro sistema aquoso, para proporcionar sistemas em emulsão ou microemulsão para beber.

Dependendo do material de veículo utilizado, pode ser formada uma dispersão sólida na forma de uma mistura eutética simples, uma solução sólida ou uma solução micelar sólida, suspensão vítreo ou solução vítreo da associação agente activo/complexo que contém o inibidor da transcrição de IL-2 com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em forma dispersada fina a molecularmente. Assim numa forma de realização, é formada uma dispersão sólida que é um coprecipitado do inibidor da transcrição de IL-2 com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e um meio transportador e.g. como descrito no WO 97/03654. Na dispersão sólida, o inibidor da transcrição de IL-2 e a 40-O-(2-hidroxietil)rapamicina estão em forma amorfa ou substancialmente amorfa, e estão fisicamente ligados ao meio transportador. O meio transportador, tipicamente presente numa quantidade entre 10 e 99,5% em peso com base no peso total da composição, pode compreender um polímero solúvel em água por exemplo hidro-

xipropilmetylcelulose, ftalato de hidroxipropilmetyl-celulose, polivinilpirrrolidona, hidroxipropilmetylcelulose ou derivados seus; um polietileno glicol, por exemplo PEG 2000, PEG 4000 ou PEG 6000 (*Handbook of Pharmaceutical Excipients*); um glicérido poliglicolizado saturado, disponível por exemplo com o nome comercial Gelucir, e.g. Gelucir 44/14, 53/10, 50/13, 42/12, ou 35/10; ou uma ciclodextrina, por exemplo uma β -ciclodextrina ou uma α -ciclodextrina.

O meio transportador pode ainda compreender um tensoactivo, por exemplo como descrito acima, ou um copolímero de polioxietileno-polioxipropileno ou copolímero de blocos conhecidos, por exemplo, com os nomes comerciais Pluronic ou Poloxamer, e.g. Poloxamer 188; uma colesterina etoxilada por exemplo Solulan C24; um derivado de vitamina, e.g. tocoferol succinato de polietileno glicol; dodecil-sulfato de sódio ou laurilsulfato de sódio; um ácido biliar ou um seu sal, por exemplo ácido cólico, ácido glicólico ou um sal, e.g. colato de sódio; ou lecitina. Se presente na dispersão sólida, o tensoactivo está geralmente numa quantidade de até 20% em peso com base no peso total da composição, e.g. 1 a 15% em peso. Se desejado podem ser incluídos na dispersão sólida outros excipientes farmacologicamente aceitáveis, e.g. como descrito acima. Quando formuladas como uma dispersão sólida, as composições desta invenção podem ser administradas, por exemplo, em forma de comprimido, cápsula ou de pó, e.g. numa saqueta.

Num aspecto adicional a invenção proporciona uma

composição farmacêutica na forma de uma microemulsão ou um pré-concentrado para microemulsão, ou uma dispersão sólida, e.g. como aqui descrito, compreendendo 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e um inibidor da transcrição de IL-2, e.g. FK 506, numa proporção sinérgica, e.g. como descrito acima, para utilização no tratamento ou prevenção de uma patologia como descrito acima, e.g. o tratamento ou prevenção de uma doença autoimune ou inflamatória, ou rejeição de transplante, especialmente rejeição crónica ou rejeição de xenoenxertos, por exemplo, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2, por exemplo, como uma composição farmacêutica com ciclosporina A e rapamicina numa proporção sinergicamente eficaz num pré-concentrado para microemulsão óleo-em-água ou para microemulsão água-em-óleo capaz de formar uma microemulsão, compreendendo uma fase hidrofíla, uma fase lipofíla e um tensoactivo, e.g. em que a fase hidrofíla, a fase lipofíla e o tensoactivo são como descritos na GB 2 222 770, GB 2 257 359 ou no WO 96/13273, e.g., em que a fase hidrofíla pode compreender 5 a 50% em peso da composição, e.g. 10 a 50%, preferencialmente 15 a 40% em peso; a fase lipofíla pode compreender 5 a 85% em peso da composição, e.g. 10 a 85%, preferencialmente 15 a 70% em peso; e o tensoactivo pode compreender 5 a 80% em peso da composição, preferencialmente 10 a 70% em peso, ou como uma composição farmacêutica com ciclosporina A e rapamicina numa proporção sinergicamente eficaz na forma de uma dispersão sólida, e.g., um co-precipitado de ciclosporina A com rapamicina e um meio transportador e.g. como

descrito acima e no WO 97/03654, e opcionalmente compreendendo ainda um tensoactivo, por exemplo como descrito acima, e.g., numa quantidade de até 20% em peso com base no peso total da composição, e.g. 1 a 15% em peso.

EXEMPLO 1 - Sinergia entre 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e ciclosporina A *in vitro*

É demonstrada a sinergia entre a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e a ciclosporina A na reacção de linfócitos mistos de murganho a dois factores. Células do baço de murganhos BALB/c e CBA (1×10^5 de cada estirpe) são cultivadas em duplicado em placas de microtitulação com 96 poços de fundo plano na ausência ou na presença de composto diluído em série em meio isento de soro. Após quatro dias, adiciona-se ^3H -timidina. Dezasseis horas depois, as células são colhidas e a incorporação de ^3H -timidina é determinada por contagem de cintilações líquidas. A proliferação celular é avaliada na ausência de compostos (valor de 100%) ou na presença de compostos ou associações de compostos diluídos em série. A incorporação máxima de ^3H -timidina (valor de 100%) é de cerca de 240×10^3 cpm, e a incorporação de fundo de ^3H -timidina em células não estimuladas é de cerca de 5×10^3 cpm. As concentrações de fármacos às quais a resposta proliferativa máxima é inibida em 70% (IC_{70}) são calculadas utilizando uma função logística de quatro parâmetros. A IC_{70} é de 21 nM para a ciclosporina A e de 0,3 nM para a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina. Em associações, a proliferação de linfócitos é determinada na presença de 0,05, 0,1, 0,2, 0,4 e 0,8 nM de 40-O-(2-

hidroxietil)-rapamicina, conjuntamente com 2,5, 5,0, 10, 15, 20 ou 25 nM de ciclosporina A. Para cada associação de fármacos, calcula-se a respectiva IC₇₀ para cada compostos individual. Estes valores de IC₇₀ são convertidos em unidades relativas em relação ao valor da IC₇₀ do respectivo tratamento com fármaco individual. Estas unidades relativas de IC₇₀ estão representadas graficamente num isobolograma na fig. 1. A natureza côncava deste isobolograma indica uma acção sinérgica entre os dois compostos. O índice de sinergia para a associação mais sinérgica é calculado como um valor de 0,8, e.g., um valor de A/A_E de 0,19 para 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e 0,52 para ciclosporina A.

EXEMPLO 2: Sinergia entre 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e ciclosporina A *in vivo*

Demonstra-se a sinergia *in vivo* utilizando os modelos de transplantação de rim ortotópico e coração heterotópico em ratos Lewis machos (haplotipo RT1¹) utilizando órgãos doados por ratos DA machos (haplotipo RT1).

O transplante de rim é seguido por nefrectomia contralateral 7 dias depois; na nefrectomia. o enxerto é inspeccionado macroscopicamente, e se a rejeição for macroscopicamente evidente, a experiência é terminada. Os animais sobrevidentes são monitorizados diariamente quanto a sinais clínicos de disfunção renal.

Os homoenxertos do coração são transplantados para o abdómen, com anastomoses entre a aorta do doador e a aorta abdominal infrarrenal do recipiente e entre a artéria pulmonar direita do doador e a veia cava inferior do recipiente. O abdómen é então apalpado diariamente para determinar se o enxerto ainda está a bater; no caso de cessação de batimento do coração, a experiência é terminada.

Nas experiências de homoenxerto de rim e de coração, o ponto de terminação em sobreviventes de longo prazo é de 100 dias. Em todos os casos, o enxerto é retirado na autópsia, fixado em formol tamponado e encastrado em parafina. Secções com espessura de quatro micrometros coradas com hematoxilina e eosina são lidas quanto a sinais de rejeição e classificadas como "sem rejeição", ou rejeição celular "marginal", "leve", "moderada" ou "grave" com base na extensão de infiltração de células mononucleares e lesão do parênquima (túbulos no rim, miocitos no coração).

Ratos Lewis deixados sem tratamento após a transplantação rejeitam um homoenxerto de rim dentro de 7 dias, com uma histologia de rejeição celular grave; o homoenxerto de coração heterotópico em recipientes não tratados deixa de bater entre o dia 7 e 10 pós transplantação, com uma histologia semelhante de rejeição celular grave.

Administra-se ciclosporina A (NEORA[®]) e/ou 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina diariamente oralmente num veículo

de pré-concentrado para microemulsão. Os dados de sobrevida e histologia dos homoenxertos estão apresentados na Tabela 1. A dose eficaz mínima de ciclosporina A que produz sobrevida do homoenxerto no longo prazo é de 5,0 mg/kg de peso corporal, com uma rejeição leve na histologia do enxerto. Para 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, tem de ser administrada uma dose de 5,0 mg/kg para sobrevida de longo prazo de um homoenxerto de rim; esta dose não é totalmente eficaz para o homoenxerto de coração.

No tratamento de associação, uma dose de 1,0 ou 2,0 mg/kg de ciclosporina A é associada a dosagens de 0,5, 1,0 ou 2,0 mg/kg de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina. A sobrevida no longo prazo do homoenxerto de rim é observada às dosagens mais baixas de ambos os compostos; a sobrevida de longo prazo do homoenxerto de coração é de 1,0 mg/kg de cada composto. Além disso, fica melhorada a histologia dos homoenxertos sobreviventes no longo prazo. Com base na dose eficaz mínima que produz sobrevida no longo prazo no tratamento com composto individual (5,0 mg/kg para a ciclosporina A, >5,0 mg/kg para a 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina), o índice de sinergia para o modelo de transplante do rim é de cerca de 0,3 (1,0 mg/kg de ciclosporina A) a 0,5 (2,0 mg/kg de ciclosporina A), e para o transplante de coração, <0,5 (1,0 mg/kg de ciclosporina A) e <0,7 (2,0 mg/kg de ciclosporina A). Assim a sinergia *in vivo* dos compostos é ainda maior do que seria previsível a partir dos resultados *in vitro*.

Tabela 1. Efeito de Neoral® e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina				
40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (mg/kg)	Dose de n Neoral®	Sobrevivência (dias)	Histologia da rejeição	
RIM	2,5 ^a	3	7*, 7*, 7*	grave
		2	24, ≥100	24:grave 100:leve
		6	≥90 (3x), ≥100 (3x)	marginal, leve
	1,0	3	11, 13, 18	moderada-grave
		4	14, 15, 18, 18	leve-moderada
		3	42, ≥100, ≥100	moderada; ≥100 marginal
	0,5	1,0	≥100, ≥100, ≥100	marginal-leve
	1,0	6	12, 17, ≥100 (x4)	marginal-leve
	2,0	3	≥64, ≥100, ≥100	marginal
	0,5	2,0	≥100, ≥100, ≥100	sem rejeição
	1,0	2,0	≥72, ≥84, ≥100	sem rejeição
	2,0	2,0	≥73, ≥100, ≥100	sem rejeição
CORAÇÃO	2,5	3	10, 10, 14	grave
		3	≥100, ≥100, ≥100	leve
		3	12, 14, 14	grave
	2,5	6	16, 18, 22, 25, 27, ≥28	moderada
		2	22, 23	moderada
		3	18, 18, 19	moderada
	1,0	1,0	18, ≥93, ≥93, ≥95, 105	leve-moderada
	2,0	1,0	≥91, ≥91, ≥92	marginal
	1,0	2,0	≥78, ≥92, ≥106	sem rejeição
	2,0	2,0	≥66, ≥105, ≥106	sem rejeição

* tratamento diário durante 14 dias

EXEMPLO 3 - Interacção farmacocinética

40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina marcada com ^3H é administrada a ratos machos juntamente com ciclosporina A marcada com ^{14}C , como um bolus intravenoso (1 mg/kg e 3 mg/kg, respectivamente) ou oralmente em microemulsão (1,5 mg/kg e 3 mg/kg, respectivamente). As concentrações de ambos os compostos em sangue inteiro são determinadas por cromatografia líquida-diluição isotópica inversa (LC-RID). A interacção entre 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e ciclosporina A é investigada por comparação da farmacocinética após co-administração com as obtidas após administração de cada composto de teste isoladamente, com resultados como os apresentados nas Tabelas 2 e 3.

TABELA 2

Distribuição de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina e ciclosporina após administração intravenosa sós e em associação
 Doses: 1 mg/kg de [^3H]40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, 3 mg/kg de [^{14}C]ciclosporina (os valores são médias \pm EP)

Parâmetro	40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina só	40-O-(2-hidroxi-etil)-rapamicina (com Ciclosporina)	Ciclosporina só	(com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina)
AUC	$\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{h}$	$0,82 \pm 0,04$	$1,55 \pm 0,16$	$12,5 - 19,0$
$t_{1/2}$	h	60 ± 10	56 ± 7	$16 - 19$
CL	mL/min	$8,2 \pm 0,3$	$3,2 \pm 0,3$	$0,7 \pm 1,4$
V	L/kg	52 ± 3	25 ± 3	$2,7 \pm 4,5$
				$3,3 \pm 0,3$

TABELA 3

Farmacocinética após administração oral sós e em associação
 Doses: 1,5 mg/kg de [³H], 3 mg/kg de [¹⁴C]ciclosporina (os
 valores são médias ± EP)

Parâmetro		40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina só	40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (com Ciclosporina)	Ciclosporina só	Ciclosporina com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina
C _{max}	ng/mL	16,7 ± 4,6	27,4 ± 7,3	228 ± 111	438 ± 247
t _{max}	h	1,6 ± 0,7	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0	3,5 ± 2,3
t _{1/2}	h	61 ± 5	30 ± 6	12 ± 1	17 ± 3
AUC	µg·mL ⁻¹ ·h	0,18 ± 0,06	0,31 ± 0,08	1,00 ± 0,20	3,10 ± 1,65

A eliminação e o volume de distribuição de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina são diminuídos (duas vezes) por co-administração com ciclosporina A; por outro lado, a distribuição da ciclosporina A não é afectada pela 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina. O aumento dos níveis sanguíneos de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina (duas vezes) observado após co-administração oral com ciclosporina pode ser atribuído a uma diminuição de eliminação e volume de distribuição, enquanto que o aumento de duas vezes dos níveis de ciclosporina A no sangue após co-administração oral com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina pode ser atribuído a uma maior absorção.

EXEMPLO 4 - Formulação combinada

Prepara-se uma cápsula de gelatina mole adequada para administração oral contendo a composição seguinte numa dosagem de 500 mg

Ciclosporina A	50 mg
40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina	5 mg
1,2-propileno glicol	50 mg
etanol absoluto	50 mg
mono-, di, tri-glicéridos de óleo de milho	154,5 mg
Cremophor RH40	190 mg
DL-alfa-tocoferol	<u>0,5 mg</u>
Total	<u>500 mg</u>

A composição é estável e não se observa precipitação.

Exemplos 5 a 9 - formulações combinadas

Prepara-se cápsulas de gelatina moles adequadas para administração oral contendo as seguintes composições, cada uma numa dosagem de 500 mg

Exemplo	5	6	7	8	9
(quantidades são em mg)					
Ciclosporina A	48	49	51	52	53
40-O-(2-hidroxietil)-	7	6	4	3	2
rapamicina					
1,2-propileno glicol	50	50	50	50	50
etanol absoluto	50	50	50	50	50
mono-, di, tri-glicé-	154,5	154,5	154,5	154,5	154,5
ridos de óleo de milho					
Cremophor RH40	190	190	190	190	190
DL-alfa-tocoferol	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5

As composições são estáveis e não se observa precipitação.

Exemplo 10

Prepara-se uma formulação em dispersão sólida contendo os seguintes componentes em partes em peso:

Ciclosporina A	10
40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina	1
HPMC 3 cps	75
Poloxamer 188	14

Os componentes são dissolvidos numa mistura de etanol/acetona 1:1. Os solventes são evaporados e o resíduo seco resultante é triturado num pó fino com um tamanho médio das partículas de cerca de 0,1 a 0,4 mm. O pó fino é formado em comprimidos ou cheio em cápsulas duras.

Lisboa,. 20 de Novembro de 2006

REIVINDICAÇÕES

1. Utilização de um inibidor da transcrição de IL-2 no fabrico de um medicamento para co-administração em quantidades sinergicamente eficazes com 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

2. Utilização de 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina no fabrico de um medicamento para co-administração em quantidades sinergicamente eficazes com um inibidor da transcrição de IL-2, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

3. Kit de partes compreendendo um inibidor da transcrição de IL-2 e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em formas de dosagem unitárias separadas, em que as referidas formas de dosagem unitárias são adequadas para administração dos dois compostos em quantidades sinergicamente eficazes, conjuntamente com instruções de utilização, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

4. Kit de acordo com a reivindicação 3, compreendendo ainda meios para facilitar o cumprimento da administração.

5. Inibidor da transcrição de IL-2 e 40-O-(2-

hidroxietil)-rapamicina como uma preparação farmacêutica combinada para utilização simultânea, separada ou sequencial em quantidades sinergicamente eficazes, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

6. Composição farmacêutica compreendendo um inibidor da transcrição de IL-2 e 40-O-(2-hidroxietil)-rapamicina em combinação ou associação com um diluente ou veículo farmaceuticamente aceitável, com a condição de que está excluída a ciclosporina A como o inibidor da transcrição de IL-2.

7. Composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 6 na forma de uma microemulsão ou um pré-concentrado para microemulsão ou uma dispersão sólida.

8. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 6 ou 7 que é uma formulação de pré-concentrado para microemulsão.

9. Composição farmacêutica de acordo com qualquer das reivindicações 6 ou 7 que é uma formulação em dispersão sólida.

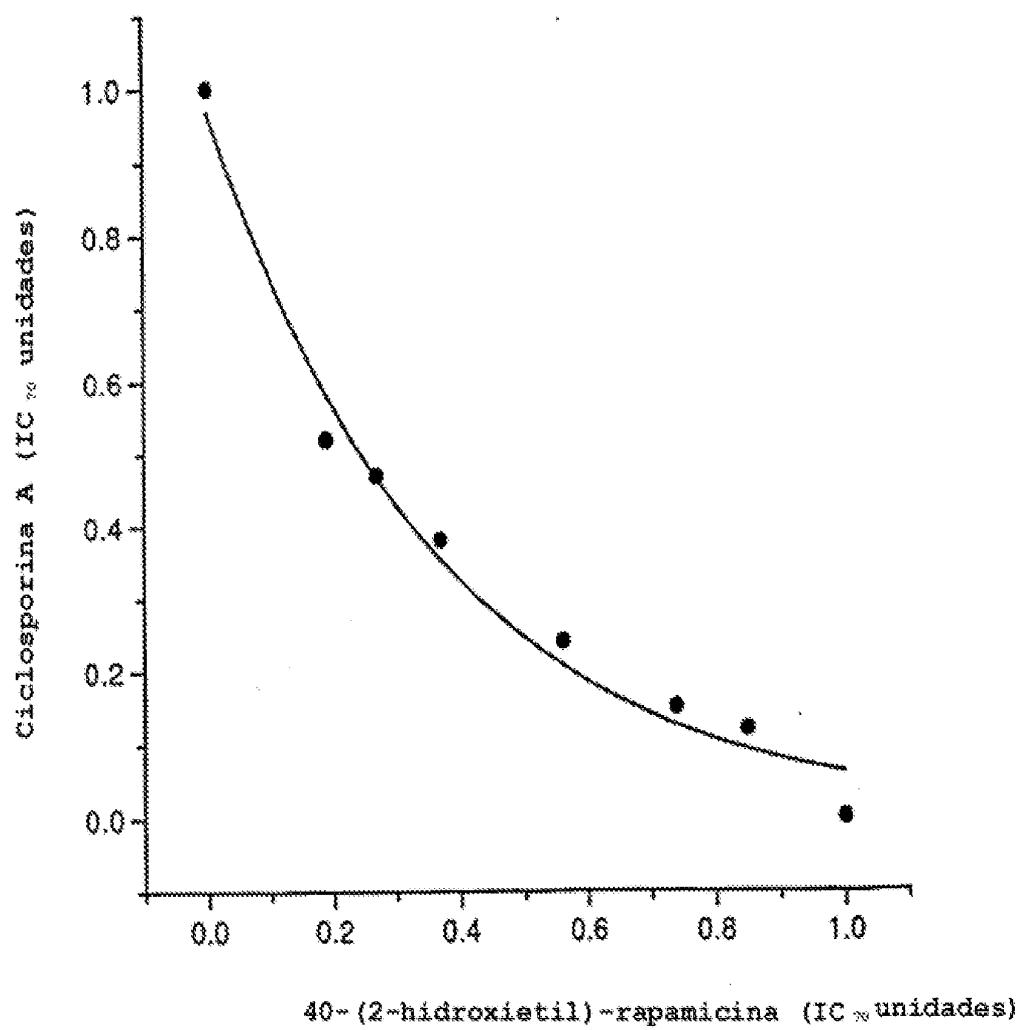


Figure 1