



INSTITUTO NACIONAL
DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

(11) *Número de Publicação:* PT 613686 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
A61K031/495 A A61P013/12 B

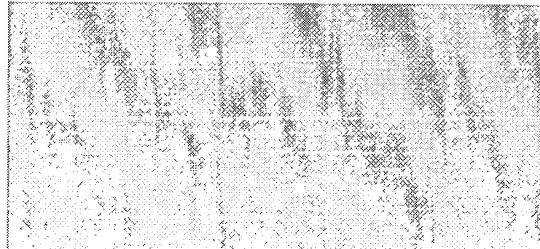
(12) **FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) <i>Data de depósito:</i> 1994.02.25	(73) <i>Titular(es):</i> LES LABORATOIRES SERVIER 22, RUE GARNIER, F-92200 NEUILLY-SUR-SEINE	FR
(30) <i>Prioridade:</i> 1993.02.26 FR 9302171		
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1994.09.07	(72) <i>Inventor(es):</i> JEAN LEPAGNOL JEAN-PAUL TILLEMENT CREVAT, AIMÉ ANNE-MARIE CHAUVENT-MONGES EDITH ALBENGRES	FR FR FR FR FR
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2001.08.16	(74) <i>Mandatário(s):</i> JOSÉ EDUARDO LOPES VIEIRA DE SAMPAIO RUA DO SALITRE, 195 R/C DTO 1250 LISBOA	PT

(54) *Epígrafe:* UTILIZAÇÃO DA TRIMETAZIDINA PARA A OBTENÇÃO DE MEDICAMENTOS DESTINADOS AO TRATAMENTO DE PERTURBAÇÕES LIGADAS À NEFROTOXICIDADE DA CICLOSPORINA A

(57) *Resumo:*

UTILIZAÇÃO DA TRIMETAZIDINA PARA A OBTENÇÃO DE MEDICAMENTOS DESTINADOS AO TRATAMENTO DE PERTURBAÇÕES LIGADAS À NEFROTOXICIDADE DA CICLOSPORINA A



Descrição

“Utilização da trimetazidina para a obtenção de medicamentos destinados ao tratamento de perturbações ligadas à nefotoxicidade da ciclosporina A”

A presente invenção tem por objecto a utilização da trimetazidina e dos seus sais toleráveis sob o ponto de vista fisiológico para a obtenção de medicamentos destinados ao tratamento de perturbações ligadas à utilização terapêutica de imunossupressores.

Foi descrita, na literatura, uma classe importante de imunossupressores cujo chefe de fila é a ciclosporina. Essa classe comporta outros análogos da ciclosporina e compostos estruturalmente diferentes mas que actuam de maneira similar., cf. S.L. Schreiber e G.R. Crabtree, The mechanism of action of ciclosporin A and FK 506, Immunology today, vol 13, nº 4, p. 136-142 (1992).

Essa classe de imunossupressores é portadora de uma toxicidade celular que se observa em especial ao nível da respiração das células de diferentes órgãos (rins, fígado, coração, ...) e ao nível da funcionalidade de alguns desses órgãos, principalmente da funcionalidade renal.

Descobriu-se, nos serviços da Requerente, que a trimetazidina protege esses órgãos de alterações induzidas pela ciclosporina, restaura a sua função respiratória celular fisiológica e a funcionalidade dos órgãos atingidos, principalmente o rim.

Com esse objectivo, mediou-se, num primeiro tempo, o consumo de oxigénio em fraccionamentos celulares e, num segundo tempo, demonstrou-se a capacidade protectora da Trimetazidina relativamente aos efeitos nefrotóxicos da ciclosporina.

Até ao presente, para limitar essa toxicidade, utilizava-se, ao nível clínico, hipotensores da classe dos antagonistas cálcicos, os quais são difíceis de utilização



devido a problemas cardiovasculares inerentes: hipotensão, edema, etc. ... fenómenos observados em especial com a Nifedipina (DCI) cf. Goodman e Gilman's, The pharmacological Basis of Therapeutics, Sétima Edição, Mac Millan, p. 819-820.

Esses inconvenientes não existem com a trimetazidina e os seus sais toleráveis sob o ponto de vista fisiológico que não têm qualquer efeito hipotensor no homem.

Além disso, a trimetazidina não altera o efeito imunológico da ciclosporina e só corrige, por consequência, o seu efeito respiratório celular indesejável.

Até agora, a trimetazidina era conhecida como agente anti-isquémico utilizado como tal em clínica, cf. C. Harpey et al., Cardiovascular Drug Reviews, vol 6, n.º4, p. 292-312 (1989) Raven Press Ltd New York.

A presente invenção tem igualmente por objecto as composições farmacêuticas que contêm como princípio activo a trimetazidina ou um dos seus sais toleráveis sob o ponto de vista fisiológico, misturado ou associado com um ou mais excipientes farmacêuticos apropriados.

As composições farmacêuticas obtidas apresentam-se vantajosamente sob formas farmacêuticas que são convenientes em especial para a administração por via oral, tal como, por exemplo, os comprimidos, as drageias, as gélulas ou as soluções bebíveis, e por via parentérica sob a forma de solutos injectáveis.

Elas apresentam-se de uma maneira geral sob forma doseada que contém entre 10 e 100 mg de princípio activo.

A posologia varia consoante a idade e o peso do paciente, a via de administração, a natureza da indicação terapêutica e os tratamentos associados, e

encontra-se compreendida entre 10 e 100 mg de princípio activo por toma, de 1 a 10 vezes ao dia consoante a dose unitária utilizada.

A presente invenção é ilustrada pelo estudo farmacológico que se indica a seguir.

ESTUDO FARMACOLÓGICO

Realizaram-se todos os ensaios que se seguem utilizando, como princípio activo, o dicloridrato de trimetazidina ou seja o dicloridrato de 1-[(2,3,4-trimetoxifenil)-metil]-piperazina e, como agente imunossupressor, a ciclosporina A.

A/ Protecção da função respiratória celular alterada pela ciclosporina A.

É avaliada pela medição das velocidades de respiração:

Mede-se o consumo de oxigénio polarograficamente por meio de um microeléctrodo de Clark ligado a um óxografo Gilson.

Mede-se este consumo sobre a fracção P₂ (crude Pellet) isolada a partir de fígados de rato de acordo com a técnica de G. Johnson e H. Lardy, Methods of Enzymology, Estabook RW e Pullman Eds, New York Academic Press (1967), 10, 94-96.

Metodologia:

Termostatiza-se a célula de medida (1,8 ml) à temperatura de 25°C. Suspende-se a fracção P₂ (1,5 mg de proteína) em um meio de respiração que contém: sacarose 0,25 M, KH₂PO₄ 4mM, Rotenona 1µM. O substrato utilizado é o succinato de sódio (concentração final : 6 mM). A fosforilação oxidativa que corresponde ao estado 3 é desencadeada pela adição de ADP (concentração final 0,1 mM).

O consumo de oxigénio durante o estado 3 permite calcular a razão P/O que

indica o número de moléculas de ADP fosforiladas por átomo de oxigénio consumido. O controlo respiratório (CR) é a razão entre as velocidades de consumo de oxigénio no estado 3 (V_3) e no estado 4 (V_4). (O estado 4 corresponde à velocidade de respiração logo que todo o ADP tenha sido fosforilado). As velocidades são expressas em nanomoles de oxigénio consumidas por mg de proteína da fracção P_2 e por minutos.

Avaliou-se a acção da ciclosporina A ($1\mu M$) sobre V_3 e P/O após incubação da fracção P_2 durante 10 minutos à temperatura de $4^{\circ}C$ com a ciclosporina A. Realizaram-se as mesmas experiências na presença de diversas doses de dicloridrato de trimetazidina que são adicionadas à cuba de medida imediatamente antes do início da medição. Os valores testemunhas de V_3 e P/O são obtidos de acordo com o mesmo protocolo experimental sem adição de ciclosporina A nem de trimetadizina.

Realizou-se cada série de medidas destinada a ensaiar a relação dose-efeito da trimetadizina com fracções P_2 que provêm da mesma extracção e numa mesma série, repetindo-se cada medida duas vezes. Os resultados dados nos quadros a seguir representam a média de três séries de medidas.

Exprimiu-se o efeito corrector da trimetazidina (TMZ) sobre a acção da ciclosporina A (Cis A) ao nível de V_3 e P/O em percentagem de restauração calculada como segue:

$$\% \text{ de restauração} = \frac{(V_3 \text{ ou P/O}) (\text{Cis A} + \text{TMZ}) - (V_3 \text{ ou P/O}) \text{ Cis A}}{(V_3 \text{ ou P/O}) \text{ valor testemunha} - (V_3 \text{ ou P/O}) \text{ Cis A}}$$

Todos estes resultados são obtidos na presença de $50\text{ nmoles de Ca}^{++}$ na cuba de medida.

Resultados:

ZS8

Encontram-se reunidos nos quadros 1 e 2 a seguir.

O quadro 1 mostra a acção da ciclosporina A (Cis A) sobre V₃ e P/O.

O quadro 2 indica os efeitos de restauração do dicloridrato de trimetazidina (TMZ, 2HCl) sobre V₃ e P/O alterados pela ciclosporina A.

Quadro 1

Cis A Concentração em μM	% de diminuição de	
	V ₃	P/O
0,5	4 ± 1	10 ± 2
1,0	14 ± 3	19 ± 3
1,5	17 ± 3	28 ± 3

Este quadro mostra o efeito da ciclosporina A sobre V₃ e P/O (valor médio ± SEM). O tempo de incubação é de 10 minutos. As percentagens são calculadas em relação aos valores testemunhas (sem ciclosporina A) sem Ca⁺⁺.

Quadro 2

TMZ, 2HCl Concentração em μM	% de restauração de	
	V ₃	P/O
0,025	10 ± 5	13 ± 3
0,05	26 ± 7	18 ± 5
0,1	39 ± 7	41 ± 9
0,2	49 ± 8	54 ± 7
0,4	64 ± 6	83 ± 9
0,8	80 ± 5	92 ± 9

Este quadro mostra a percentagem de restauração de V₃ e P/O pelo dicloridrato de trimetazidina após a acção da ciclosporina A para a concentração de 1 μM na presença de 50 nmoles de Ca⁺⁺ (valores médios ± SEM).

Conclusão:

Dos resultados anteriores, pode deduzir-se que a trimetazidina, sob a forma de dicloridrato, restaura a função respiratória celular previamente alterada pela



ciclosporina A.

B/ Inibição pela trimetazidina dos efeitos nefrotóxicos da ciclosporina A

A ciclosporina A e os compostos que pertencem à sua classe farmacológica são utilizados em terapêutica a fim de evitar os fenómenos de rejeição após transplantes de órgãos (cf : N. Engl. J. Med 309, 809-815, 1983) mas igualmente em dermatologia, no tratamento da psoriase em particular.

No entanto, a sua utilização terapêutica apresenta o inconveniente de uma toxicidade renal.

Demonstrou-se que a trimetazidina permite inibir este tipo de efeito nefrotróxico induzido pela ciclosporina.

Material e métodos:

Submeteu-se dois grupos de oito ratos machos Sprague-Dawley quer à acção da trimetazidina ou do seu veículo (grupo testemunha).

A dose administrada foi de 10 mg/kg/dia de dicloridrato de trimetazidina durante sete dias, por via subcutânea.

Em seguida isolaram-se os rins dos ratos dos dois grupos e perfusionaram-se com 1,2 mg/minuto de ciclosporina A durante cinco minutos.

Mediram-se em seguida durante quarenta minutos os parâmetros que revelam os efeitos secundários da ciclosporina A (caudal urinário, caudal de filtração glomerular e fluxo plasmático renal).

Os protocolos experimentais são os que foram já descritos na literatura (cf : Lab. Invest. 58, 163-171, 1988; Clin. Sci. Mol. Med 55, 513-521, 1978 e J. Biol. Chem. 158, 581-591, 1945); os resultados obtidos foram analisados estatisticamente.

Resultados:

Para os animais testemunhas, observou-se, após perfusão da ciclosporina A uma queda considerável e estatisticamente significativa dos valores dos parâmetros medidos (40 a 60%). Pelo contrário, para os animais previamente tratados com o dicloridrato de trimetazidina, a queda é mínima e não significativa; o que demonstra o efeito protector da trimetazidina em relação a tais efeitos nefrotóxicos induzidos pela ciclosporina A. Os resultados encontram-se reunidos no quadro a seguir:

		P1	P2	P3
GRUPO TESTEMUNHA	Antes da ciclosporina A	73 ± 8	$0,780 \pm 0,106$	30 ± 2
	Após a ciclosporina A (Λ)	$44 \pm 13^*$	$0,350 \pm 0,092^{**}$	$12 \pm 4^{**}$
GRUPO TRATADO COM DICLORIDRATO DE TRIMETAZIDINA	Antes da ciclosporina A	68 ± 12	$0,735 \pm 0,110$	27 ± 4
	Após a ciclosporina A (Λ)	63 ± 10	$0,678 \pm 0,086$	25 ± 2

(Λ) : 40 minutos após a perfusão de ciclosporina A

P1 : Caudal urinário ($\mu\text{l}/\text{mn}$)

P2 : Caudal de filtração glomerular ($\text{ml}/\text{mn}/\text{g de rim}$)

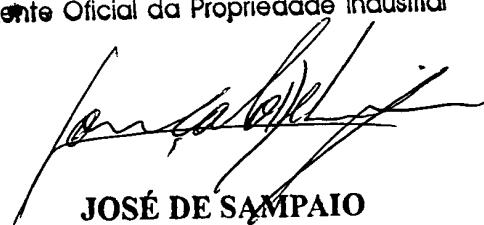
P3 : Fluxo plasmático renal (ml/mn)

* : $p \leq 0,05$ vs testemunhas antes da ciclosporina A

** : $p \leq 0,01$ vs testemunhas antes da ciclosporina A

Lisboa, 20 de Agosto de 2001

O Agente Oficial da Propriedade Industrial



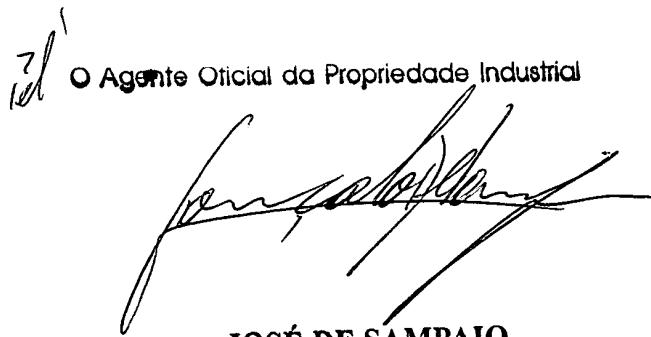
JOSÉ DE SAMPAIO

A.O.P.I.
Rua do Salitre, 195, r/c-Drt.
1269-063 LISBOA

Reivindicações

1. Utilização para a obtenção de medicamentos destinados ao tratamento de perturbações ligadas à nefrotoxicidade da ciclosporina A, da trimetazidina e dos seus sais toleráveis sob o ponto de vista fisiológico.
2. Utilização, para a obtenção de medicamentos, de acordo com a reivindicação 1, do dicloridrato de trimetazidina.

Lisboa, 20 de Agosto de 2001

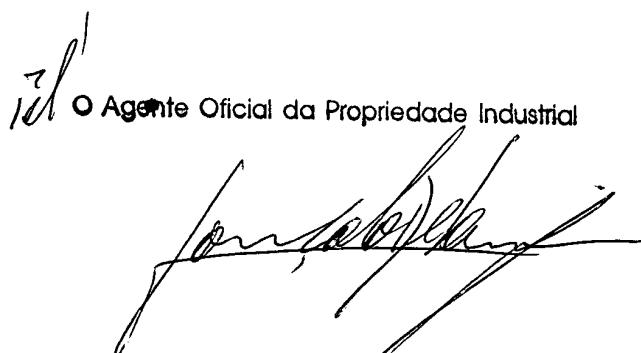

○ Agente Oficial da Propriedade Industrial
JOSÉ DE SAMPAIO
A.O.P.I.
Rua do Salitre, 195, r/c-Drt.
1269-063 LISBOA

Resumo

"Utilização da trimetazidina para a obtenção de medicamentos destinados ao tratamento de perturbações ligadas à nefrotoxicidade da ciclosporina A"

A presente invenção diz respeito à utilização, para a obtenção de medicamentos destinados ao tratamento de perturbações ligadas à utilização terapêutica de imunossupressores, da trimetazidina ou de um dos seus sais toleráveis sob o ponto de vista fisiológico.

Lisboa, 20 de Agosto de 2001


○ Agente Oficial da Propriedade Industrial
JOSÉ DE SAMPAIO
A.O.P.I.
Rua do Salitre, 195, r/c-Drt.
1269-063 LISBOA