

(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

(22) Data de pedido: 2004.02.26	(73) Titular(es): PHARMA MAR, S.A.U.	
(30) Prioridade(s): 2003.02.26 GB 0304367	POLIGONO INDUSTRIAL LA MINA AVDA. DE	
(43) Data de publicação do pedido: 2005.11.23	LOS REYES, 1 COLMENAR VIEJO 28770	
(45) Data e BPI da concessão: 2010.12.22 038/2011	MADRID	ES
	(72) Inventor(es): MIGUEL ANGEL IZQUIERDO DELSO	ES
	(74) Mandatário: MANUEL ANTÓNIO DURÃES DA CONCEIÇÃO ROCHA	
	AV LIBERDADE, Nº. 69 1250-148 LISBOA	PT

(54) Epígrafe: **USO DE COMPOSTOS DE KAHALALIDE PARA A PRODUÇÃO DE UM
MEDICAMENTO DESTINADO AO TRATAMENTO DA PSORÍASE**

(57) Resumo:
COMPOSTOS DE KAHALALIDE, EM PARTICULAR, KAHALALIDE F, ÚTEIS NUM MÉTODO DE
TRATAMENTO DE UM MAMÍFERO QUE SOFRA DE UMA DOENÇA CUTÂNEA, EVITANDO
TOXICIDADE E CONDUZINDO A UMA MELHORIA CLÍNICA.

RESUMO

**"USO DE COMPOSTOS DE KAHALALIDE PARA A PRODUÇÃO DE UM
MEDICAMENTO DESTINADO AO TRATAMENTO DA PSORÍASE"**

Compostos de kahalalide, em particular, kahalalide F, úteis num método de tratamento de um mamífero que sofra de uma doença cutânea, evitando toxicidade e conduzindo a uma melhoria clínica.

DESCRIÇÃO

"USO DE COMPOSTOS DE KAHALALIDE PARA A PRODUÇÃO DE UM MEDICAMENTO DESTINADO AO TRATAMENTO DA PSORÍASE"

Antecedentes da invenção

A psoríase é uma doença cutânea crónica, inflamatória, com uma componente genética, remissiva e recorrente que afecta 1 a 3% da população mundial. Caracteriza-se pelas pápulas eritematosas e fortemente demarcadas e pelas placas arredondadas, cobertas por escamas micáceas prateadas. As lesões cutâneas da psoríase são variavelmente pruríticas. Existem vários tipos de psoríase, incluindo as variantes em placas, pustular, gutata e artrítica. Actualmente, não existe uma cura para a psoríase, apenas uma terapêutica supressiva (Greaves e Weinstein, 1995, *Drug Therapy*, 332: 581-588).

A doença surge em duas faixas etárias distintas. A apresentação prematura da doença (tipo 1), com um pico entre os 15 e os 35 anos de idade, é a mais frequente e está normalmente associada a registos familiares. A apresentação mais tardia da doença (tipo 2) surge num pico das idades entre os 55 e os 60 anos.

Não se conhecem as causas da psoríase, embora existam evidências de uma predisposição genética e de uma etiologia auto-imune. O surto pode ser despoletado por infecções sistémicas, como a faringite, lesões cutâneas, vacinação e alguns fármacos orais, como os esteróides.

Subsequentemente, crê-se que o sistema imunitário induz a inflamação e a reprodução excessiva de células cutâneas,

que pode ser exacerbada por factores adicionais, como o stress e a dieta.

O objectivo dos actuais tratamentos tem sido a redução da gravidade e da extensão da psoríase, a ponto de esta deixar de interferir substancialmente com a profissão, com o bem-estar ou com a vida pessoal ou social do paciente. O tratamento inicial para a psoríase em placas estável de qualquer gravidade é um tratamento tópico. No entanto, em pacientes com mais de 20% da pele afectada, o tratamento tópico isolado pode ser pouco prático e a terapêutica sistémica também pode ser indicada no início do surto.

O tratamento tópico da psoríase em placas incorpora o uso de emolientes, agentes ceratolíticos, alcatrão de hulha, antralina, corticosteróides de potência média a forte e calpotriene. Todos estes tratamentos apresentam uma eficácia variável, não impedem reincidências frequentes da doença, apresentam efeitos secundários e colocam problemas cosméticos por si sós. O uso de esteróides também pode originar resistência, tornando subsequentemente o tratamento com esteróides ineficaz. Por exemplo, a patente de invenção US 4 853 388 descreve o uso de agentes citotóxicos e antimetabolitos, como o 5-fluorouracil no tratamento da psoríase através de administração tópica.

O tratamento sistémico tem sido usado em pacientes com psoríase física, social ou economicamente inibidora que não respondeu ao tratamento tópico. As actuais opções têm sido a fototerapia ou a terapêutica sistémica com fármacos. Geralmente, o tratamento sistémico tem utilizado a fototerapia com radiação ultravioleta B, fotoquimioterapia que combina o fármaco fotossensibilizador metoxaleno com a fototerapia com ultravioleta A (PUVA), metotrexato,

etretinato, corticosteróides sistémicos e ciclosporinas. Cada um destes tratamentos sistémicos apresenta uma eficácia variável e efeitos secundários indesejáveis, e alguns deles são muito tóxicos e apresentam recidivas frequentes. Por exemplo, o uso prolongado de fototerapias pode envelhecer precocemente a pele e aumentar a incidência de cancros da pele. O uso de metotrexato exige uma vigilância cuidadosa para evitar danos hepáticos. Por exemplo, Boffa et al., *Clin. Exp. Dermatology*, 1996, 21, p. 399-408, que apresenta uma análise do uso de metotrexato como agente anti-psoriático. Em particular, esta análise discute o mecanismo de acção do metotrexato juntamente com os efeitos secundários associados ao uso deste composto no tratamento. O uso de retinóides orais deve ser cuidadosamente controlado nos pacientes do sexo feminino devido à potencial causa de malformações congénitas. Este risco estende-se durante anos após a cessação do uso do fármaco. A ciclosporina, um imunossupressor, está reservada a pacientes nos quais falharam outros tratamentos internos, ou para os quais outros tratamentos internos estão contraindicados. Também se comprovou que a rotação entre terapêuticas e as combinações de fármacos tópicos com fototerapias são regimes úteis no tratamento da psoríase.

Assim, actualmente existe uma necessidade urgente quanto a um tratamento eficaz da psoríase que evite as desvantagens associadas aos tratamentos tópicos ou sistémicos actualmente disponíveis, com melhores perfis de eficácia, segurança e de efeitos secundários.

Constitui um objectivo da presente invenção proporcionar um tratamento eficaz da psoríase, com benefícios clínicos.

Em particular, constitui um objectivo da invenção proporcionar dosagens e regimes dos compostos que possam ser usados na terapia da psoríase em seres humanos, evitando as toxicidades ao mesmo tempo que se mantêm os efeitos desejados.

Constitui ainda um outro objectivo da invenção proporcionar novos produtos para administração no tratamento da psoríase.

RESUMO DA INVENÇÃO

Desenvolvemos um método de tratamento de um mamífero que sofre de uma doença cutânea com compostos de kahalalide, em particular a kahalalide F, evitando a toxicidade e levando a uma melhoria clínica.

Os compostos de kahalalide são péptidos isolados de uma espécie marinha e herbívora de um molusco havaiano, *Elysia refuscens*. As kahalalides A-F são descritas na patente de invenção EP 610 078 e em Hamman et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, 115, 5825-5826.

As kahalalides A-G são descritas em Hamann, M. et al., *J. Org. Chem.*, 1996, 61, 6594-6600: "Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia refuscens* and its algal diet *Bryopsis* sp."

As kahalalides H e J são descritas em Scheuer P. J. et al., *J. Nat. Prod.*, 1997, 60, 562-567: "Two acyclic kahalalides from the sacoglossan mollusk *Elysia refuscens*".

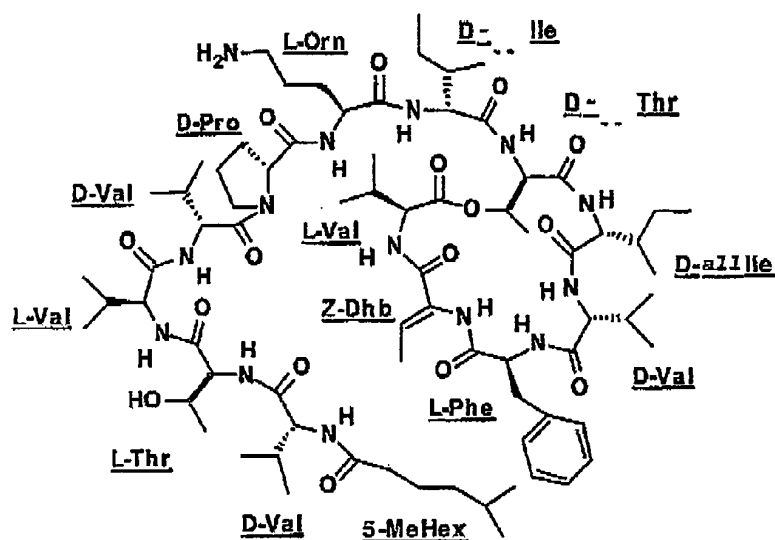
A kahalalide O é descrita em Scheuer P. J. et al., *J. Nat. Prod.* 2000, 63(1) 152-4: A new depsipeptide from the sacoglossan mollusk *Elysia ornata* and the green alga *Bryopsis* species".

Em relação à kahalalide K, veja-se Kan, Y. et al., *J. Nat. Prod.* 1999 62(8) 1169-72: "Kahalalide K: A new cyclic depsipeptide from the Hawaiian green alga bryopsis species".

Para mais estudos, veja-se também Goetz et al., *Tetrahedron*, 1999, 55: 7739-7746: "The absolute stereochemistry of Kahalalide F"; Albericio, F. et al., *Tetrahedron Letters*, 2000, 41, 9765-9769: "Kahalalide B. Synthesis of a natural cyclodepsipeptide"; Becerro et al., *J. Chem. Ecol.* 2001, 27(11), 2287-99: "Chemical defenses of the sarcoglossan mollusk *Elysia refuscens* and its host *Alga bryopsis* sp".

A síntese e actividades citotóxicas dos compostos naturais e sintéticos da kahalalide são descritas na patente de invenção WO 0158934.

De todos os compostos de kahalalide, a kahalalide F é o mais promissor graças à sua actividade antitumoral. Na patente de invenção EP 610 078, refere-se que a kahalalide F apresenta a estrutura:



A kahalalide F é um tridecapeptídeo com uma lateral em forma de anel e um lado lateral, contendo um grupo de ácidos gordos ligado a este último. A sua actividade contra as culturas celulares *in vitro* de carcinoma do pulmão A-549 humano e carcinoma do cólon HT-29 humano foi registada na patente de invenção EP 610 078.

A patente de invenção WO 02 36145 descreve composições farmacêuticas contendo kahalalide F e novos usos deste composto na terapia do cancro.

Veja-se também Beijnen, J. H. et al., *Drug Dev. Ind. Pharm.* 2001, 27(8) 767-80: "Development of a lyophilized parenteral pharmaceutical formulation of the investigational polypeptide marine anticancer agent kahalalide F", que descreve formulações liofilizadas da kahalalide F e seu uso enquanto agente antitumoral; Breijnen, J. H, et al., *Br. J. Clin. Pharmacol.* 2002, 53 (5), 543: "Bioanalysis of the novel peptide anticancer drug kahalalide F in human plasma by h.p.l.c. under basic conditions coupled with positive turbo-ionspray tandem mass spectrometry"; Breijnen, J. H. et al., *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* 2001, 55 (4) 223-9: "In vitro hemolysis and buffer capacity studies with the novel marine anticancer agent kahalalide F and its reconstitution vehicle cremophor EL/ethanol"; Sparidans R. W. et al., *Anticancer Drugs* 2001, 12(7) 575-82: "Chemical and enzymatic stability of a cyclic depsipeptide, the novel, marine-derived, anti-cancer agent kahalalide F".

Além disso, Faircloth et al., *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual*, 2003, 41 p. 600-601, descreve o uso de kahalalide F no tratamento de tumores da próstata.

Em estudos pré-clínicos, a kahalalide F apresentou uma actividade significativa contra as linhas celulares de tumores sólidos, e selectividade em relação a, sem quaisquer restrições, células tumorais da próstata, neuroblastomas, algumas linhas primárias de sarcomas e células tumorais que sobreexpressam o oncogene Her2/neu. Os estudos de exposição *in vitro* demonstraram que a kahalalide F não depende de regimes. O seu mecanismo de acção ainda não foi explicado, mas os estudos *in vitro* mostraram que a actividade da kahalalide F provoca a dilatação ("swelling") e morte celular, veja-se por exemplo Garcia-Rocha, M., Bonay P., Avila J., *Cancer Lett.* 1996 99(1) 43-50: "The antitumoural compound Kahalalide F acts on cell lysosomes".

Estudos pré-clínicos *in vivo* determinaram que a dose máxima tolerada (DMT) de KF em ratos fêmea após injeção i.v. de um único bólus era de 280 µg/kg. Enquanto que as doses unitárias pouco acima da DMT i.v. eram extremamente tóxicas, com os animais a exhibir sinais de neurotoxicidade seguida de morte, era possível administrar 280 µg/kg repetidamente, de acordo com regime de uma toma diária, durante cinco dias, sem qualquer evidência aparente de toxicidade aguda. Veja-se Supko, F. et al., *Proceedings of the 1999 AACR NCI ORTC International Conference*, abstract 315: "Preclinical pharmacology studies with the marine natural product Kahalalide F".

No nosso pedido de patente de invenção PCT/GB2002/004735, são apresentadas directrizes para o tratamento de seres humanos com compostos de kahalalide, em particular kahalalide F, em contexto clínico. São descritas as dosagens e horários de tomas, bem como os procedimentos

para limitar as toxicidades que podem ser provocadas por estes compostos.

Inesperadamente, no decorrer de um ensaio clínico para o tratamento do cancro, descobrimos que os compostos de kahalalide, e em particular da kahalalide F, são eficazes no tratamento da psoríase.

Descrição minuciosa

A presente invenção diz respeito ao uso de um composto da kahalalide seleccionada entre o grupo constituído por kahalalide F, análogos da kahalalide F que diferem apenas na cadeia lateral ou misturas dos mesmos na produção de um fármaco para o tratamento da psoríase.

A presente invenção pode ser utilizada particularmente no tratamento de pacientes com psoríase refractária que não responda favoravelmente a outros tratamentos. Em particular, as composições da presente invenção podem ser utilizadas após experiência sem sucesso com outra terapêutica.

Num outro aspecto, a presente invenção proporciona o uso de um fármaco para o tratamento de um paciente afectado por psoríase, que inclui a administração ao referido paciente de um composto de kahalalide numa dose inferior a 1200 mcg/m²/dia, preferivelmente inferior a 930 mcg/m²/dia e mais preferivelmente inferior a 800 mcg/m²/dia. Convenientemente, a dose é de pelo menos 320 mcg/m²/dia. Preferivelmente, a dose encontra-se no intervalo entre 400-900 mcg/m²/dia, preferivelmente entre 500-800 mcg/m²/dia, mais preferivelmente entre 600-750 mcg/m²/dia. Especialmente preferíveis são as doses compreendidas entre

650 e 700 mcg/m²/dia, em especial 650 mcg/m²/dia. As dosagens supra referidas permitem uma terapia eficaz da psoríase em seres humanos.

Num outro aspecto, o composto de kahalalide é administrado por via intravenosa. Preferivelmente em ciclos de 1-4 semanas. É preferível um ciclo semanal. O tempo de infusão é preferivelmente entre cerca de 1 hora e entre cerca de 24 horas, mais preferivelmente entre cerca de 1 hora e entre cerca de 3 horas. Um tempo de infusão de cerca de 1 hora é especialmente preferido.

Também se descreve uma composição farmacêutica que contém uma dose recomendada de um composto de kahalalide para o tratamento da psoríase e um veículo farmaceuticamente aceitável. Preferivelmente, a composição farmacêutica destina-se a um tratamento seleccionado entre a infusão intravenosa, a infusão intradérmica ou tópica. Preferivelmente, é usada uma infusão intravenosa.

Também se descreve um kit médico para administração de um composto de kahalalide, que inclui instruções impressas para a administração do composto de kahalalide de acordo com as doses e regimes supra referidos, e um fornecimento do composto de kahalalide em doses unitárias durante pelo menos um ciclo, em que cada dose unitária contém a quantidade adequada do composto de kahalalide para os tratamentos conforme supra definido e um veículo farmaceuticamente aceitável.

O termo "composto de kahalalide" inclui compostos naturais, suas misturas e novos compostos, por exemplo, conforme definido na patente de invenção WO 01 58934. Especialmente preferido é o composto kahalalide F.

Assim, a presente invenção utiliza uma kahalalide natural, como a kahalalide F ou uma imitação de uma kahalalide natural. Os compostos miméticos podem diferir em um ou mais aminoácidos, e em um ou mais componentes da cadeia lateral acilo. Preferivelmente, diferem em um ou mais componentes da cadeia lateral acilo. Exemplos do composto de kahalalide para utilização na presente invenção incluem em especial o composto identificado como kahalalide F com uma cadeia lateral de 5-metilexil, e compostos que diferem apenas na cadeia lateral, como o análogo 4-metilhexil, especialmente o análogo 4-(S)-metilexilo, e misturas do mesmo.

Mais especialmente, a kahalalide pode ser kahalalide F preparada de acordo com os procedimentos descritos na patente de invenção EP 610 078, mais especialmente a kahalalide F que se insira nos dados facultados pela patente de invenção EP 610 078, uma kahalalide com a estrutura apresentada quanto à kahalalide F na patente de invenção EP 610 078 com a cadeia lateral 5-metilexil e preparada através de meios sintéticos ou outros, uma kahalalide com a estrutura apresentada na patente de invenção EP 610 078 mas com uma cadeia lateral 4-metilexilo, especialmente uma cadeia lateral 4-(S)-metilexilo.

Convenientemente, os análogos terão pelo menos uma das seguintes características para se diferenciarem de uma kahalalide de ocorrência natural:

1 a 7, especialmente 1 a 3, mais especialmente 1 a 2, e idealmente 1 aminoácido que não é o mesmo aminoácido do composto-mãe;

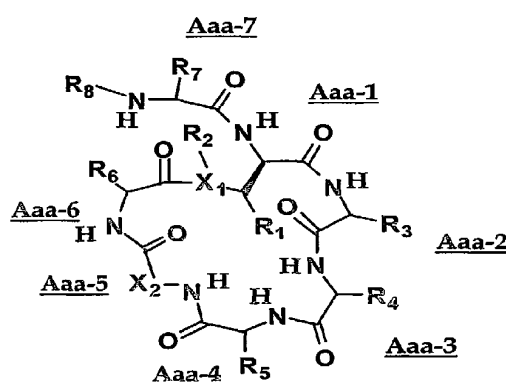
1 a 10, especialmente 1 a 6, mais especialmente 1 a 3 e idealmente 1 ou 2, grupos metileno adicionais no grupo acilo da cadeia lateral do composto-mãe;

1 a 10, especialmente 1 a 6, mais especialmente 1 a 3 e idealmente 1 ou 2 grupos metileno omitidos no grupo acilo da cadeia lateral do composto-mãe;

1 a 6, especialmente 1 a 3 substituintes adicionados ou omitidos do grupo acilo da cadeia lateral do composto-mãe.

Quando às kahalalides cíclicas, a adição ou omissão de aminoácidos pode ocorrer no anel cíclico ou na cadeia lateral.

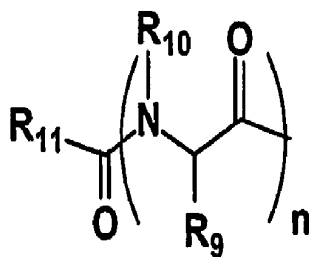
Exemplos de compostos análogos são os compostos relacionados com a kahalalide F e com a seguinte fórmula:



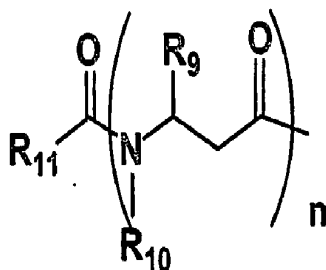
em que Aaa₁, Aaa₂, Aaa₃, Aaa₄, Aaa₆ e Aaa₇ são, de forma independente, α-aminoácidos de configuração L ou D, se aplicável;

em que R₁, R₂, R₃, R₄, R₅, R₆ e R₇ são, de forma independente, H ou um grupo orgânico seleccionado entre o grupo constituído por um grupo alquilo, um grupo arilo, um grupo aralquilo e seus derivados substituídos por um grupo

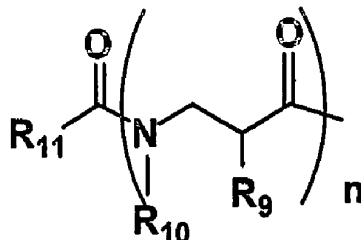
hidroxi, um grupo mercapto, um grupo amino, um grupo guanidino, um grupo halogénio; em que X_1 é, de forma independente, O, S ou N; em que R_2 é, se aplicável, de forma independente, H ou um grupo orgânico seleccionado entre o grupo constituído por um grupo alquilo e um grupo aralquilo; em que Aaa_5 é, de forma independente, um aminoácido de configuração L ou D, se aplicável; em que X_2 é, de forma independente, um grupo orgânico seleccionado entre o grupo constituído por um alquenilo, um grupo alquilo, um grupo arilo, um grupo aralquilo e seus derivados substituídos por um grupo hidroxi, um mercapto independente H ou um grupo orgânico seleccionado entre o grupo constituído por um grupo alquilo, um grupo arilo, um grupo aralquilo e seus derivados substituídos por um grupo hidroxi, um grupo mercapto, um grupo amino, um grupo guanidino, um grupo halogénio; em que R_6 é independente das seguintes fórmulas III, IV ou V:



Fórmula III



Fórmula IV



Fórmula V

em que R_9 , R_{10} e R_{11} são, cada um de forma independente, H ou um grupo orgânico seleccionado entre o grupo constituído por um grupo alquilo, um grupo arilo, um grupo aralquilo e seus derivados substituídos por um grupo hidroxil, um grupo mercapto, um grupo amino, um grupo guanidino, um grupo carboxilo, um grupo carboxamido, um grupo halogénico; em que R_9 e R_{10} podem formar parte do mesmo ciclo; R_9 pode conferir uma configuração em S ou R, se aplicável, ao carbono a ele ligado; e n é 0 a 6. As definições dos aminoácidos também podem variar de forma a permitir a prolina e aminoácidos análogos, incluindo hidroxiprolina. As fórmulas (III), (IV) e (V) podem ser misturadas de forma a resultar numa cadeia lateral constituída por unidades repetidas em mais do que uma destas fórmulas.

Numa modificação, um ou mais aminoácidos do anel Aaa-6 e Aaa-5 do hex-aminoácido cíclico é omitido ou um aminoácido Aaa-7 é adicionado entre Aaa-6 e Aaa-1, de forma a obter-se aminoácidos com quatro, cinco ou sete anéis. São preferíveis aminoácidos com seis anéis.

A administração dos compostos ou composições da presente invenção pode ser parentérica ou tópica,

preferivelmente através de infusão intravenosa. Pode optar-se por um tempo de infusão de até 72 horas, mais preferivelmente de 1 a 24 horas, sendo preferíveis cerca de 1 hora ou cerca de 3 horas. São especialmente preferíveis os tempos de infusão mais curtos que permitam que o tratamento seja realizado sem necessidade de o paciente pernoitar no hospital. No entanto, a infusão pode ser de cerca de 24 horas, ou até mais longa, se necessário.

Embora as directrizes para a dosagem tenham sido fornecidas em cima, a dosagem correcta do composto pode variar de acordo com a formulação em questão, o modo de aplicação e o tipo de psoríase a tratar. Outros factores, como a idade, peso, sexo, dieta, tempo de administração, taxa de excreção, condição do hospedeiro, combinações de fármacos, sensibilidades de reacção e gravidade da doença, deverão ser tidos em conta. A administração pode ser realizada de forma contínua ou periódica, até se atingir a dose máxima tolerada.

No método de aplicação preferido, a administração é realizada em ciclos, uma infusão intravenosa dos compostos de kahalalide é administrada aos pacientes na primeira semana de cada ciclo, os pacientes podem recuperar para a parte remanescente do ciclo. A duração preferida de cada ciclo é de 1, 3 ou 4 semanas; os ciclos múltiplos podem ser administrados consoante a necessidade. Os atrasos e/ou reduções das dosagens e ajustes de regimes são realizados de acordo com a necessidade, dependendo da tolerância individual do paciente aos tratamentos. Em particular, as reduções de dosagens são recomendadas para os pacientes com níveis séricos de transaminases hepáticas ou fosfatase alcalina mais elevados do que o normal.

As composições alcalinas de compostos de kahalalide que podem ser utilizadas incluem as composições líquidas (soluções, suspensões ou emulsões) com adequada composição para administração intravenosa, e podem conter o composto em estado puro ou em combinação com qualquer veículo ou outros compostos farmacologicamente activos. Outras directrizes relacionadas com as composições farmacêuticas podem ser consultadas na patente de invenção WO 02 36145. As formulações tópicas e intradérmicas de compostos de kahalalide, em particular kahalalide F, também são contempladas no âmbito da presente invenção.

Uma combinação de um tensioactivo não iónico e um ácido orgânico é adequada para utilização com um agente de volume, para dar origem a uma forma liofilizada de um composto de kahalalide adequado para reconstituição. A reconstituição é, preferivelmente, realizada com uma mistura de um agente solubilizante emulsionante, álcool e água.

Preferivelmente, a composição liofilizada é composta essencialmente pelo agente de volume, como pelo menos 90% ou pelo menos 95% de agente de volume. Exemplos de agentes de volume são bem conhecidos e incluem a sacarose e manitol. Podem ser utilizados outros agentes de volume.

O tensioactivo não iónico na composição liofilizada é, preferivelmente, um éster de sorbitano, mais preferivelmente um éster de polietileno sorbitano, como um alcenoato de polietileno sorbitano, em especial um monooleato de polioxietileno sorbitano, por exemplo, polissorbato 80. O tensioactivo não iónico tipicamente engloba uma percentagem reduzida da composição, tal como 0%

a 5% da composição, por exemplo, 2% a 3% ou 4% da composição.

O ácido orgânico na composição liofilizada é tipicamente um ácido alifático, preferivelmente um ácido hidroxicarboxílico e mais preferivelmente um ácido hidroxipolicarboxílico, notavelmente um ácido cítrico. O ácido orgânico tipicamente inclui uma percentagem reduzida da composição, tal como 0% a 5% da composição, por exemplo, 2% a 3% ou 4% da composição.

A quantidade de composto de kahalalide na composição liofilizada é tipicamente inferior a 3%, ou muitas vezes inferior a 2,5% da mistura.

O agente solubilizante emulsionante para o agente de reconstituição inclui convenientemente um éster polietilenoglicol, notavelmente um éster de um ácido gordo, mais preferivelmente um oleato PEG como oleato PEG-35. O agente emulsionante é convenientemente 0% a 25% do agente de reconstituição, tipicamente cerca de 5% a 20%, ou seja, cerca de 15%. O álcool é geralmente etanol, e convenientemente perfaz 0 a 25% do agente de reconstituição, tipicamente cerca de 5% a 20%, ou seja, cerca de 15%. O remanescente agente de reconstituição é água, e resulta numa solução reconstituída adequada para injeção intravenosa.

A diluição adicional da solução reconstituída com 0,9% de soro fisiológico pode ser adequada para a infusão do composto de kahalalide.

Preferivelmente, a composição liofilizada inclui 1 mg de kahalalide F, 50 mg de sacarose, 1 mg de ácido cítrico nítrico e 1 mg de polissorbato 80.

O agente de reconstituição preferido inclui, então, 5% a 20%, ou seja, cerca de 15%, de solubilizante emulsionante, 5% a 20%, ou seja, cerca de 15% de álcool e o remanescente de água.

Também são descritos os kits que incluem recipientes separados que contêm a composição liofilizada e o agente de reconstituição. São também proporcionados métodos de reconstituição.

É também descrito um método de tratamento de qualquer mamífero, nomeadamente um ser humano, afectado pela psoríase, que inclui a administração a esse mesmo indivíduo uma dose terapeuticamente eficaz de uma composição farmacêutica preparada através de reconstituição de uma composição liofilizada da presente invenção.

A solução reconstituída é preparada para infusão e é administrada através de uma infusão de 1 a 3 horas em concentrações de até cerca de 20 ou 25 µg/ml, tipicamente até 15 µg/ml. O equipamento de infusão adequado preferivelmente inclui um recipiente de vidro, ao invés de um recipiente de polietileno. Os tubos são preferivelmente de silicone.

É preferível o uso de tempos de infusão de até 24 horas, e, conforme supra explicado, é preferível um tempo de infusão de cerca de 1 hora. Numa variação, o tempo de infusão é de 2 a 12 horas, como por exemplo, 2 a 6 horas. Os tempos de infusão mais curtos, que permitem que o tratamento seja realizado sem a necessidade de pernoitar no hospital, são especialmente desejáveis. No entanto, a infusão pode ser de 12 a 24 horas, ou até mais longa, se necessário. A infusão pode ser realizada em intervalos adequados de 2 a 4 semanas. Num protocolo de dosagem

alternativo, o composto de kahalalide, como a kahalalide F, é administrado durante cerca de 1 hora durante 5 dias consecutivos a cada 3 semanas. Podem ser criados outros protocolos enquanto variações.

Os compostos e composições da presente invenção podem ser usados com outros fármacos ou terapias para proporcionar uma terapia de combinação. Os outros fármacos podem fazer parte da mesma composição ou podem ser proporcionados como composição separada para administração em simultâneo ou num outro momento. A identidade do outro fármaco não é especialmente limitada, sendo feita referência àqueles fármacos supra mencionados, entre outros.

EXEMPLOS DA INVENÇÃO

Um paciente com cancro da cabeça e do pescoço em ensaio clínico com administração de kahalalide F através de infusão semanal (KHF-A-002-01) num nível de dosagem que actualmente é a dose recomendada para os demais estudos ($650 \mu\text{g}/\text{m}^2$). Este estudo clínico e farmacocinético de fase I foi concebido para determinar a segurança da kahalalide F administrada sob a forma de infusão semanal durante 1 hora em pacientes com tumores sólidos. Este ensaio dirigiu-se a quaisquer tumores sólidos e foi concebido sob a forma de uma escala clássica. O paciente era um paciente com 60 anos de idade com um historial de psoríase de mais de 40 anos. No momento em que se iniciou o tratamento com KHF, ele apresentava uma psoríase de elevado grau de gravidade. Após

a primeira infusão de KHF, o paciente apresentou uma rápida melhoria dos sintomas da psoríase, seguida de uma importante remissão das placas cutâneas. Com as seguintes infusões de KHF registou-se uma importante melhoria clínica desta psoríase grave, conseguindo-se uma remissão praticamente total das placas cutâneas. Este paciente recebeu um total de 7 infusões de KHF antes da evolução do seu tumor do pescoço e da cabeça. No entanto, dois meses depois da administração da última dose de KHF, a psoríase grave do paciente ainda se encontrava numa situação de remissão praticamente total.

REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO

A presente listagem de referências citadas pela requerente é apresentada meramente por razões de conveniência para o leitor. Não faz parte da patente de invenção europeia. Embora se tenha tomado todo o cuidado durante a compilação das referências, não é possível excluir a existência de erros ou omissões, pelos quais o IEP não assume nenhuma responsabilidade.

Patentes de invenção citadas na descrição

- US 4853388 A [0006]
- EP 610078 A [0013] [0020] [0021] [0037]
- WO 0158934 A [0019] [0035]
- WO 0236145 A [0022] [0045]
- GB 2002004735 W [0027]

Literatura não relacionada com patentes, citada na descrição

- Greaves; Weinstein. *Drug Therapy*, 1995, vol. 332, 581-588 [0001]
- Boffa et al. *Clin. Exp. Dermatology*, 1996, vol. 21, 399-408 [0007]
- Hamman et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 1993, vol. 115, 5825-5826 [0013]
- Hamman et al. "Kahalalides: bioactive peptides from a marine mollusk *Elysia refuscens* and its algal diet *Bryopsis* sp." *J. Org. Chem.*, 1996, vol. 61, 6594-6600 [0014]
- Scheuer P. J. et al. "Two acyclic kahalalides from the

sacoglossan mollusk *Elysia refuscens*." *J. Nat. Prod.*, 1997, vol. 60, 562-567 [0015]

- **Scheuer P. J. et al.** "A new depsipeptide from the sacoglossan mollusk *Elysia ornata* and the green alga *Bryopsis* sp." *J. Nat. Prod.*, 2000, vol. 63 (1), 152-4 [0016]

- **Kan, Y. et al.** "Kahalalide K: A new cyclic depsipeptide from the hawaiian green alga *bryopsis* species." *J. Nat. Prod.*, 1999, vol. 62 (8), 1169-72 [0017]

- **Goetz et al.** "The absolute stereochemistry of Kahalalide F." *Tetrahedron*, 1999, vol. 55, 7739-7746 [0018]

- **Albericio, F. et al.** "Kahalalide B. Synthesis of a natural cyclodepsipeptide." *Tetrahedron Letters*, 2000, vol. 41, 9765-9769 [0018]

- **Becerro et al.** "Chemical defenses of the sarcoglossan mollusc *Elysia refuscens* and its host Alga *bryopsis* sp." *J. Chem. Ecol.*, 2001, vol. 27 (11), 2287-99 [0018]

- **Beijnen, J. H. et al.** "Development of a lyophilized parenteral pharmaceutical formulation of the investigational polypeptide marine anticancer agent kahalalide F." *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 2001, vol. 27 (8), 767-80 [0023]

- **Beijnen, J. H. et al.** *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 2002, vol. 53 (5), 543 [0023]

- **Beijnen, J. H. et al.** "In vitro hemolysis and buffer capacity studies with the novel marine anticancer agent Kahalalide F and its reconstitution vehicle cremophor EL/ethanol." *PDA J. Pharm. Sci. Technol.*, 2001, vol. 55 (4), 223-9 [0023]

- **Sparidans R. W. et al.** "Chemical and enzymatic stability of a cyclic depsipeptide, the novel, marine-derived, anti-

cancer agent kahalalide F." *Anticancer drugs*, 2001, vol. 12 (7), 575-82 [0023]

- **Faircloth et al.** *Proceedings of the American Association for Cancer Research Annual*, 2003, vol. 41, 600-601 [0024]

- **Garcia-Rocha M. ; Bonay P. ; Avila J.** "The antitumoural compound Kahalalide F acts on cell lysosomes." *Cancer Lett.*, 1996, vol. 99 (1), 43-50 [0025]

- **Supko, F. et al.** "Preclinical pharmacology studies with the marine natural product Kahalalide F." *Proceedings of the 1999 AACR NCI EORTC International Conference*, abstract 315 [0026]

REIVINDICAÇÕES

1. Uso de um composto de kahalalide seleccionado entre o grupo constituído por kahalalide F, análogos de kahalalide F que diferem apenas na cadeia lateral ou misturas dos mesmos, na produção de um medicamento destinado ao tratamento da psoríase.

2. Uso de um composto de kahalalide de acordo com a reivindicação 1, em que o composto de kahalalide é kahalalide F, o análogo 4-metilexilo ou uma mistura dos mesmos.

3. Uso de um composto de kahalalide de acordo com a reivindicação 2, em que o composto de kahalalide é kahalalide F.

4. Uso de um composto de kahalalide de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o composto de kahalalide deve ser usado em combinação com outro fármaco ou fármacos ou terapêutica para proporcionar uma terapêutica de combinação.

5. Uso de um composto de kahalalide de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o composto de kahalalide deve ser administrado num nível de dose compreendido entre 1200 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ e 320 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

6. Uso de um composto de kahalalide de acordo com a reivindicação 5, em que o nível de dose é entre as 800 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ e as 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

7. Uso de um composto de kahalalide de acordo com a reivindicação 6, em que o nível de dose é de 650 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

8. Uso de um composto de kahalalide de acordo com qualquer uma das reivindicações precedentes, em que o composto de kahalalide deve ser administrado por infusão intravenosa em ciclos de 1 a 4 semanas.

9. Uso de um composto de kahalalide de acordo com a reivindicação 5, em que o composto de kahalalide deve ser administrado num ciclo semanal.

10. Uso de um composto de kahalalide de acordo com as reivindicações 8 ou 9, em que o tempo de infusão é de cerca de 1 hora.

11. Composto de kahalalide seleccionado entre o grupo constituído por kahalalide F, análogos de kahalalide F que diferem apenas na cadeia lateral ou misturas dos mesmos, para uso no tratamento da psoríase.

12. Composto de kahalalide para uso de acordo com a reivindicação 11, em que o composto de kahalalide é kahalalide F, o análogo 4-metilexilo ou uma mistura dos mesmos.

13. Composto de kahalalide para uso de acordo com a reivindicação 12, em que o composto de kahalalide é kahalalide F.

14. Composto de kahalalide para uso de acordo com as reivindicações 11 a 13, em que o composto de kahalalide deve ser usado em combinação com outro fármaco ou fármacos ou terapêutica para proporcionar uma terapêutica de combinação.

15. Composto de kahalalide para uso de acordo com as reivindicações 11 a 14, em que o composto de kahalalide deve ser administrado num nível de dose entre as 1200 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ e as 320 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

16. Composto de kahalalide para uso de acordo com a reivindicação 15, em que o nível de dose se situa entre as 800 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$ e as 500 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

17. Composto de kahalalide para uso de acordo com a reivindicação 16, em que o nível de dose é de 650 $\mu\text{g}/\text{m}^2/\text{dia}$.

18. Composto de kahalalide para uso de acordo com as reivindicações 11 a 17, em que o composto de kahalalide deve ser administrado por infusão intravenosa em ciclos de 1 a 4 semanas.

19. Composto de kahalalide para uso de acordo com as reivindicações 18, em que o composto de kahalalide é administrado num ciclo semanal.

20. Composto de kahalalide para uso de acordo com as reivindicações 18 ou 19, em que o tempo de infusão é de cerca de 1 hora.