



(12) FASCICULE DE BREVET

- (11) N° de publication : **MA 34952 B1**
- (43) Date de publication : **01.03.2014**
- (51) Cl. internationale :
**A61K 31/337; A61K 31/4188;
A61K 31/506; A61K 45/06;
A61P 35/00; A61P 43/00**

-
- (21) N° Dépôt :
36217
- (22) Date de Dépôt :
03.09.2013
- (30) Données de Priorité :
04.02.2011 IB PCT/IB2011/050494
- (86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT :
PCT/IB2012/050513 03.02.2012
- (71) Demandeur(s) :
ACTELION PHARMACEUTICALS LTD, Gewerbestrasse 16 CH-4123 Allschwil (CH)
- (72) Inventeur(s) :
REGENASS, Urs
- (74) Mandataire :
SABA & CO

-
- (54) Titre : **COMBINAISONS COMPRENANT DU MACITENTAN POUR LE TRAITEMENT D'UN GLIOBLASTOME MULTIFORME**
- (57) Abrégé : L'invention concerne l'utilisation de macitentan en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique (tel que le témozolomide ou le paclitaxel), à une radiothérapie ou à la fois à un agent thérapeutique cytotoxique et à une radiothérapie, dans le traitement d'un gliome malin, en particulier un glioblastome multiforme.

RÉSUMÉ

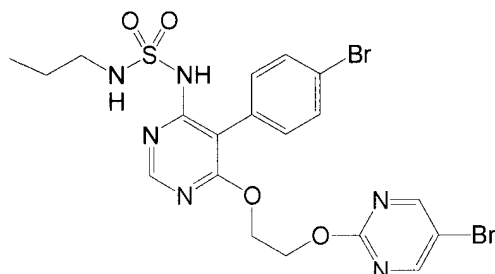
L'invention se rapporte à l'utilisation du macitentan en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique (comme le témozolomide ou le paclitaxel), avec une radiothérapie ou avec à la fois un agent thérapeutique cytotoxique et à une radiothérapie, dans le traitement d'un gliome malin, en particulier d'un glioblastome multiforme.

1

01 MARS 2014

COMBINAISONS COMPRENANT DU MACITENTAN POUR LE TRAITEMENT DU
GLIOBLASTOME MULTIFORME

La présente invention concerne la combinaison du macitentan, c.-à-d. du composé de formule I



I

avec un agent chimiothérapeutique comme le témozolomide ou le paclitaxel, avec une radiothérapie ou à la fois avec un agent chimiothérapeutique et une radiothérapie, les
5 composants de la combinaison étant utilisés à des fins thérapeutiques simultanément, séparément ou d'une manière étalée dans le temps dans le traitement d'un gliome malin, en particulier d'un glioblastome multiforme.

Le gliome malin et le glioblastome multiforme constituent des formes de cancer rares pour lesquelles il n'existe actuellement pas de traitements satisfaisants. Même avec la thérapie
10 la meilleure disponible, le pronostic pour les patients demeure péjoratif (voir par ex. M. Khasraw & A.B. Lassman, *Curr. Oncol. Rep.* (2010), **12**, 26-33).

La demande PCT WO 02/053557 décrit des antagonistes des récepteurs des endothélines, y compris le composé de formule I (dénomination commune internationale : macitentan) et l'utilisation desdits antagonistes des récepteurs des endothélines dans le traitement de
15 diverses maladies, dont le cancer en général.

Par ailleurs, la demande PCT WO 2009/104149 divulgue que la combinaison de macitentan et de paclitaxel a un effet synergique dans le traitement du cancer de l'ovaire.

Le témozolomide (le principe actif d'un médicament commercialisé sous la marque Temodar[®] aux États-Unis) est un agent alkylant oral. Ce composé est actuellement approuvé dans l'Union européenne et aux États-Unis dans, entre autres, le traitement du glioblastome multiforme.

- 5 Le rôle potentiel des endothélines, en particulier de l'endothéline-1 (ET-1), dans le gliome malin et le glioblastome multiforme est documenté dans la littérature, et les antagonistes des récepteurs des endothélines en général ont été mentionnés en tant qu'agents thérapeutiques potentiels pour le traitement du glioblastome multiforme.

Par exemple, G. Egidy *et al.* (*Lab. Invest.* (2000), **80**, 1681-1689) enseignent que « [dans
10 des] lignées de cellules de glioblastomes humains, le système de l'ET-1 n'a pas joué un rôle dans la prolifération tumorale, mais l'ET-1 a représenté un facteur de survie (...) ».

En outre, M. Paolillo *et al.* (*Pharmacol. Res.* (2010), **61**, 306-315) enseignent que « les antagonistes des récepteurs ET_B réduisent la prolifération et induisent une apoptose dans des lignées de cellules de gliomes ». Toutefois, ces auteurs admettent ensuite que « des
15 études additionnelles sont requises pour confirmer la fiabilité des antagonistes des récepteurs ET_B en tant qu'outil pharmacologique prometteur dans le traitement de gliomes ».

D'autre part, l'antagoniste des récepteurs des endothélines qu'est l'atrasentan a été utilisé dans des études cliniques de Phase I menées chez des patients souffrant d'un gliome malin
20 récurrent, comme rapporté par Phuphanich *et al.* (*J. Neurooncol.* (2008), **10**(4), 617-623). Toutefois, le développement de ce composé dans cette indication n'a pas été poursuivi à ce jour.

Le demandeur a maintenant établi que le macitentan, qui est un antagoniste à la fois des récepteurs des endothélines de type A (ET_A) et des récepteurs des endothélines de type B
25 (ET_B), produit des effets exceptionnellement marqués dans un modèle de glioblastome *in vivo* quand il est combiné à un agent chimiothérapeutique cytotoxique comme le témozolomide ou le paclitaxel. En conséquence, le macitentan en combinaison avec un agent chimiothérapeutique cytotoxique comme le témozolomide ou le paclitaxel peut être

utilisé pour la préparation d'un médicament, et il se prête au traitement de gliomes malins, en particulier de glioblastomes multiformes.

Divers modes de réalisation de l'invention sont présentés ci-après :

- 1) L'invention se rapporte en premier lieu à un produit contenant du macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci pour une utilisation dans le traitement de gliomes malins en combinaison avec un agent chimiothérapeutique cytotoxique, avec une radiothérapie ou à la fois avec un agent thérapeutique cytotoxique et une radiothérapie. Conformément à cette invention, les composants de la combinaison peuvent être administrés simultanément, séparément ou d'une manière étalée dans le temps.
- 10 Les paragraphes qui suivent fournissent les définitions des divers termes utilisés dans la présente demande de brevet. Ces définitions sont conçues pour être uniformément applicables dans l'ensemble de la spécification et des revendications, à moins qu'une définition autrement exposée de façon explicite n'élargisse ou ne resserre leur signification.
- 15 Le terme « sel pharmaceutiquement acceptable » fait référence à des sels d'addition d'acides et/ou de bases inorganiques ou organiques non toxiques. Un renvoi est fait à « *Salt Selection for Basic Drugs* », *Int. J. Pharm.* (1986), **33**, 201-217.

Tel qu'utilisée ici, l'expression « agent chimiothérapeutique cytotoxique » fait référence à une substance qui induit une apoptose ou une mort cellulaire nécrotique. Les exemples d'agents chimiothérapeutiques cytotoxiques qui peuvent être utilisés en combinaison avec des antagonistes des récepteurs des endothélines selon la présente invention comprennent les suivants :

- agents alkylants (par exemple méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, streptozocine, carmustine, lomustine, melphalan, busulfan, dacarbazine, témozolomide, thiotépa ou altrétamine) ;
- médicaments à base de platine (par exemple cisplatine, carboplatine ou oxaliplatine) ;
- antimétabolites (par exemple fluoro-5-uracile, capécitabine, 6-mercaptopurine, méthotrexate, gemcitabine, cytarabine, fludarabine ou pemetrexed) ;
- antibiotiques antitumoraux (par exemple daunorubicine, doxorubicine, épiburicine, idarubicine, actinomycine-D, bléomycine, mitomycine-C ou mitoxantrone) ; et

- antimitotiques (par exemple paclitaxel, docétaxel, ixabepilone, vinblastine, vincristine, vinorelbine, vindésine ou estramustine) ; et
- inhibiteurs de topoisomérases (par exemple étoposide, téniposide, topotécan, irinotécan, diflomotécan ou élomotécan).

5 Dans la présente demande de brevet, les termes « simultanément » ou « simultané » utilisés en référence à un mode d'administration signifient que le mode d'administration concerné consiste à administrer deux ou plusieurs principes actifs par la même voie et en même temps.

10 Dans le présente demande de brevet, les termes « séparément » ou « séparé » utilisés en référence à un mode d'administration signifient que le mode d'administration concerné consiste à administrer deux ou plusieurs principes actifs au même moment environ par au moins deux différentes voies.

15 Dans la présente demande de brevet, une administration « étalée dans le temps » fait référence à l'administration de deux ou plusieurs principes actifs à des moments différents, et en particulier à une méthode d'administration selon laquelle l'administration d'un des principes actifs est entièrement terminée avant que l'administration de l'autre ou des autres ne débute. Il est ainsi possible d'administrer l'un des principes actifs pendant plusieurs mois avant d'effectuer l'administration de l'autre ou des autres principes actifs. Dans ce cas, aucune administration simultanée n'a lieu. L'administration « étalée dans le temps »
20 englobe également les situations dans lesquelles les principes actifs ne sont pas administrés selon la même périodicité (par ex. dans le cas où un principe actif est administré une fois par jour et un autre l'est une fois par semaine).

2) Le gliome malin du mode de réalisation 1) correspondra en particulier à un glioblastome multiforme.

25 3) Le produit du mode de réalisation 1) ou 2) sera préférablement combiné à un agent thérapeutique cytotoxique ou à un agent thérapeutique cytotoxique et à une radiothérapie, ledit agent thérapeutique cytotoxique étant sélectionné parmi des agents alkylants et des antimitotiques.

- 4) Conformément à une variante du mode de réalisation 3), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un agent alkylant (notamment un agent alkylant sélectionné parmi les suivants : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, streptozocine, carmustine, lomustine, melphalan, busulfan, dacarbazine, témozolomide, thiotépa, altrétamine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).
- 5) L'agent alkylant du mode de réalisation 4) sera en particulier le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
- 6) Conformément à une autre variante du mode de réalisation 3), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un antimétoprotique (et notamment un antimétoprotique sélectionné parmi les suivants : paclitaxel, docétaxel, ixabepilone, vinblastine, vincristine, vinorelbine, vindésine, estramustine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).
- 7) L'antimétoprotique du mode de réalisation 6) sera en particulier le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
- 8) Conformément à une autre variante des modes de réalisation 1) à 7), le macitentan ou son sel pharmaceutiquement acceptable sera destiné à être administré par voie orale.
- 9) Conformément à une autre variante des modes de réalisation 1) à 7), le macitentan ou son sel pharmaceutiquement acceptable sera destiné à être administré par voie intraveineuse ou intrapéritonéale (et notamment par voie intraveineuse).
- 10) Dans un mode de réalisation secondaire particulier, le produit selon l'un des modes de réalisation 1) à 9) sera tel que l'agent thérapeutique cytotoxique est destiné à être administré par voie orale.
- 11) Dans un autre mode de réalisation secondaire particulier, le produit selon l'un des modes de réalisation 1) à 4) sera tel que l'agent thérapeutique cytotoxique est destiné à être administré par voie intraveineuse ou intrapéritonéale (et notamment par voie intraveineuse).
- 12) L'invention se rapporte également à une composition pharmaceutique contenant, comme principes actifs, le macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique et au moins un excipient non

toxique, pour une utilisation dans le traitement d'un gliome malin, en option en association avec une radiothérapie.

13) La composition pharmaceutique du mode de réalisation 12) sera en particulier pour une utilisation dans le traitement d'un glioblastome multiforme.

5 14) L'agent thérapeutique cytotoxique du mode de réalisation 12) ou 13) sera préférablement sélectionné parmi des agents alkylants et des antimétabolites.

15) Conformément à une variante du mode de réalisation 14), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un agent alkylant (notamment un agent alkylant sélectionné parmi les suivants : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, streptozocine, 10 carmustine, lomustine, melphalan, busulfan, dacarbazine, témozolomide, thiotépa, altrétamine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).

16) L'agent alkylant du mode de réalisation 15) sera en particulier le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

17) Conformément à une autre variante du mode de réalisation 14), l'agent thérapeutique 15 cytotoxique sera un antimétabolite (et notamment un antimétabolite sélectionné parmi les suivants : paclitaxel, docétaxel, ixabepilone, vinblastine, vincristine, vinorelbine, vindésine, estramustine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).

18) L'antimétabolite du mode de réalisation 17) sera en particulier le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

20 19) Dans un mode de réalisation secondaire préféré, la composition pharmaceutique selon l'un des modes de réalisation 12) à 18) sera sous une forme liquide appropriée à une administration par voie intraveineuse.

20) La composition pharmaceutique du mode de réalisation 19) peut par exemple contenir 25 du macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci et du témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci dans une solution aqueuse contenant du mannitol, de la L-thréonine, du polysorbate 80, du citrate de sodium et de l'acide chlorhydrique (une telle solution aqueuse pouvant par exemple être obtenue par mélange de la spécialité commerciale qu'est TEMODAR® en solution injectable avec de l'eau pour

préparations injectables puis addition du macitentan ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci).

21) La composition pharmaceutique du mode de réalisation 19) peut également contenir du macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci et du témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci dans une solution aqueuse contenant de la méthylcellulose, du polysorbate 80, du glucose, de l'huile de ricin polyoxyéthylée (par ex. Cremophor[®] EL) et de l'éthanol.

22) Dans un autre mode de réalisation secondaire préféré, la composition pharmaceutique selon l'un des modes de réalisation 12) à 18) sera sous une forme solide appropriée à une administration par voie orale.

23) Dans un mode de réalisation alternatif de cette invention, le macitentan peut être formulé sous la forme d'un comprimé comme décrit dans le brevet WO 2007/031933 tandis que l'agent thérapeutique cytotoxique peut se présenter sous la forme de l'une de ses formulations commerciales (préféablement une formulation orale, si disponible), les composants de la combinaison étant destinés à être utilisés à des fins thérapeutiques simultanément, séparément ou d'une manière étalée dans le temps dans le traitement d'un gliome malin, en particulier d'un glioblastome multiforme.

La production des compositions pharmaceutiques peut être effectuée d'une manière avec laquelle l'homme du métier sera familier [voir par exemple Remington, *The Science and Practice of Pharmacy*, 21^e Édition (2005), Partie 5, « *Pharmaceutical Manufacturing* » (publié par Lippincott Williams & Wilkins)] en associant les composés décrits ou leurs sels pharmaceutiquement acceptables, en option en combinaison avec d'autres substances thérapeutiquement utiles, dans une forme galénique avec des matériaux véhicules appropriés thérapeutiquement compatibles solides ou liquides, non toxiques et inertes et, si souhaité, des adjuvants pharmaceutiques classiques.

24) L'invention se rapporte en outre à l'utilisation du macitentan ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique, pour la préparation d'un médicament destiné à être utilisé dans le traitement d'un gliome malin, en option en association avec une radiothérapie.

- 25) Le gliome malin du mode de réalisation 24) correspondra en particulier à un glioblastome multiforme.
- 26) L'agent thérapeutique cytotoxique du mode de réalisation 24) ou 25) sera préférablement sélectionné parmi des agents alkylants et des antimétabolites.
- 5 27) Conformément à une variante du mode de réalisation 26), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un agent alkylant (notamment un agent alkylant sélectionné parmi les suivants : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, streptozocine, carmustine, lomustine, melphalan, busulfan, dacarbazine, témozolomide, thiotépa, altrétamine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).
- 10 28) L'agent alkylant du mode de réalisation 27) sera en particulier le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
- 29) Conformément à une autre variante du mode de réalisation 26), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un antimétabolite (et notamment un antimétabolite sélectionné parmi les suivants : paclitaxel, docétaxel, ixabepilone, vinblastine, vincristine, vinorelbine, vindésine, estramustine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).
- 15 30) L'antimétabolite du mode de réalisation 29) sera en particulier le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
- 31) L'invention se rapporte en outre à l'utilisation du macitentan ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, dans la fabrication d'un médicament destiné à être utilisé en association à une radiothérapie dans le traitement d'un gliome malin.
- 20 32) Le gliome malin du mode de réalisation 31) correspondra en particulier à un glioblastome multiforme.
- 33) L'invention se rapporte en outre à une méthode de traitement d'un patient souffrant d'un gliome malin par administration au dit patient de macitentan ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique, avec une radiothérapie ou avec un agent thérapeutique cytotoxique et une radiothérapie.
- 25

34) Le gliome malin du mode de réalisation 33) correspondra en particulier à un glioblastome multiforme.

35) L'agent thérapeutique cytotoxique du mode de réalisation 33) ou 34) sera préférablement sélectionné parmi des agents alkylants et des antimétopiques.

5 36) Conformément à une variante du mode de réalisation 35), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un agent alkylant (notamment un agent alkylant sélectionné parmi les suivants : méchloréthamine, chlorambucil, cyclophosphamide, ifosfamide, streptozocine, carmustine, lomustine, melphalan, busulfan, dacarbazine, témozolomide, thiotépa, altrétamine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).

10 37) L'agent alkylant du mode de réalisation 36) sera en particulier le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

38) Conformément à une autre variante du mode de réalisation 35), l'agent thérapeutique cytotoxique sera un antimétopique (et notamment un antimétopique sélectionné parmi les suivants : paclitaxel, docétaxel, ixabepilone, vinblastine, vincristine, vinorelbine, vindésine, estramustine et sels pharmaceutiquement acceptables de ces composés).

15 39) L'antimétopique du mode de réalisation 38) sera en particulier le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

Par ailleurs, les préférences indiquées pour le produit selon cette invention s'appliquent bien sûr *mutatis mutandis* aux compositions pharmaceutiques, utilisations et méthodes selon cette invention.

20 Les doses exactes à administrer du ou des principes actifs d'un produit selon cette invention devront être déterminées par le médecin traitant. Toutefois, il est anticipé qu'une dose de 0,01 à 10 mg (préférablement de 0,1 à 5 mg, et plus préférablement de 0,1 à 1 mg) de macitentan par kg de poids corporel du patient par jour, en option combinée à, par
25 exemple, une dose de 1 à 20 mg (et préférablement de 2 à 15 mg) de témozolomide par kg de poids corporel du patient par jour ou à une dose de 0,1 à 10 mg (et préférablement de 1 à 3 mg) de paclitaxel par kg de poids corporel du patient par jour, sera appropriée.

Les exemples montrant l'utilité de l'invention présentés à la section qui suit servent à illustrer l'invention d'une manière plus détaillée, mais ils ne sont aucunement limitatifs de sa portée.

Propriétés pharmacologiques du produit de l'invention

5 **Exemples 1 à 3 : Injection de cellules de glioblastome humain LN229 sous guidage stéréotaxique dans le cerveau de souris *nude* :**

Matériel

Véhicule pour le macitentan :

Le véhicule utilisé pour le macitentan a consisté en de la méthylcellulose à 0,5 % et du
10 Tween 80 à 0,05 %. On a ajouté le Tween 80 au volume approprié d'une solution de méthylcellulose à 0,5 % stérile avant chaque préparation du macitentan. On a pesé le macitentan et on l'a homogénéisé dans le véhicule pendant une heure à température ambiante pour obtenir une suspension à 2 mg/ml fine et homogène. Les solutions de travail
15 de macitentan ont été préparées chaque semaine. Les sept aliquotes qui ont été obtenues pour chaque jour de traitement ont été stockées à 4 °C et à l'abri de la lumière. On a détruit toute solution restant après chaque administration plutôt que de la conserver pour une autre utilisation.

Véhicule pour le témozolomide :

Le témozolomide (100 mg) a en premier lieu été préparé dans un mélange
20 Cremophor EL/Éthanol (2:1 p/p). Après dilution complète, on a dilué le témozolomide avec du glucose à 5 % (Aguettant, France) pour atteindre la concentration de 0,25 mg/ml. On a préparé les solutions de travail de témozolomide avant chaque administration aux souris et on ne les a pas conservées pour une autre utilisation.

Voies d'administration

25 Voie d'administration du macitentan :

On a administré le macitentan à raison de 5 ml/kg par gavage oral au moyen d'une canule. Les volumes administrés ont été adaptés en fonction du poids corporel individuel le plus récent des souris.

Voie d'administration du témozolomide :

On a administré le témozolomide à raison de 10 ml/kg par gavage oral au moyen d'une canule. Le volume administré a été adapté en fonction du poids corporel individuel le plus récent des souris.

5 *Animaux*

Quarante-huit (48) souris *Swiss nude* femelles ont été obtenues auprès de Charles River (France). On a placé les animaux dans une unité adaptée à l'hébergement d'animaux exempts d'organismes pathogènes spécifiques et on les a observés pendant 7 jours au cours de la période d'acclimatation qui a précédé le traitement. On a effectué les
10 expérimentations animales dans le respect des directives d'éthique européenne sur les études menées chez l'animal.

Méthode générale utilisée pour effectuer l'injection de cellules de glioblastome humain LN229 sous guidage stéréotaxique dans le cerveau de souris nude

On a récolté des cellules de glioblastome humain LN229 en culture après une courte
15 exposition à une solution d'EDTA à 0,02% et de trypsine à 0,25 % puis on les a remises en suspension dans une solution salée équilibrée de Hanks exempte de Mg^{++}/Ca^{++} (ajustement à 1×10^5 cellules dans 10 μ l). On a anesthésié des souris *nude* par injection intrapéritonéale de nembutal (0,5 mg/g de poids corporel, Abbott Laboratories, North Chicago, IL, États-Unis) avant injection intrathécale de 1×10^5 cellules LN229/souris sous guidage
20 stéréotaxique. En bref, on a pratiqué une seule incision allant du pôle antérieur du crâne à la crête postérieure pour exposer le scalp. On a percé un trou au niveau de la zone cible et injecté les cellules LN229 en utilisant les coordonnées stéréotaxiques suivantes (par rapport au bregma) : 1,5 mm en direction rostrale, 1,5 mm en direction antérieure et 4 mm en dessous de la surface de la pie-mère. On a utilisé une micro-pompe automatique
25 (Stoelting Instruments, Wood Dale, IL, États-Unis) pour administrer 1×10^5 cellules dans 10 μ l de suspension sur une période de 5 minutes. Une fois l'injection terminée, on a bouché le trou avec de la cire à os et fermé l'ouverture avec des agrafes cutanées.

Exemple 1 : Traitement par le macitentan et le témozolomide :

Deux semaines après l'injection intrathécale de cellules tumorales sous guidage stéréotaxique (par la méthode générale décrite ci-dessus), les souris ont été randomisées dans 4 groupes de traitement :

- 5 - un groupe de 13 souris (« groupe TÉMOIN ») qui n'ont reçu aucun traitement ;
- un groupe de 12 souris (« groupe TMZ ») qui ont reçu le traitement suivant : une administration orale de témozolomide à 7,5 mg/kg par jour pendant une semaine suivie d'une période de deux semaines sans traitement, puis à nouveau une administration orale de témozolomide à 7,5 mg/kg par jour pendant une semaine suivie d'une période
10 de deux semaines sans traitement et ainsi de suite ;
- un groupe de 12 souris (« groupe MCTNT ») qui ont reçu une administration orale de macitentan à 10 mg/kg chaque jour ; et
- un groupe de 13 souris (« groupe TMZ + MCTNT ») qui ont reçu à la fois le
15 témozolomide et le macitentan aux mêmes posologies en termes de doses, voies d'administration et schémas de traitement que celles indiquées pour les deux autres groupes d'animaux traités.

On a surveillé les souris quotidiennement et on les a euthanasiées au développement de symptômes neurologiques ou quand elles sont devenues moribondes. On a consigné la durée de la survie en jours et récolté les tissus cérébraux, qui ont été traités pour effectuer
20 des examens histologiques. On a mis fin à l'expérience au Jour 100.

Résultats :

Les résultats respectifs concernant la survie obtenus dans les quatre groupes de souris sont présentés à la Figure 1. Après 100 jours et comme le montre cette figure, le taux de survie a été inférieur à 20 % dans le groupe TÉMOIN et de 40 % environ dans le groupe TMZ
25 comme dans le groupe MCTNT, alors qu'il a été de 100 % dans le groupe TMZ + MCTNT. Par ailleurs, toutes les souris traitées par la combinaison macitentan plus témozolomide étaient en vie au Jour 100 et ne présentaient aucun signe de tumeur cérébrale.

A

Exemple 2 : Traitement par le macitentan et le paclitaxel :Méthodes expérimentales :

Deux semaines après l'injection intrathécale de cellules tumorales sous guidage stéréotaxique (par la méthode générale décrite ci-dessus), les souris ont été randomisées

5 dans 4 groupes de traitement :

- un groupe de 8 souris (« groupe TÉMOIN ») qui n'ont reçu aucun traitement ;
- un groupe de 8 souris (« groupe PTL ») qui ont reçu une administration intrapéritonéale de paclitaxel à 8,5 mg/kg par semaine ;
- un groupe de 8 souris (« groupe MCTNT ») qui ont reçu une administration orale de
10 macitentan à 10 mg/kg chaque jour ; et
- un groupe de 8 souris (« groupe PTL + MCTNT ») qui ont reçu à la fois le paclitaxel et le macitentan aux mêmes posologies en termes de doses, voies d'administration et schémas de traitement que celles indiquées pour les deux autres groupes d'animaux traités.

15 On a poursuivi le traitement pendant 70 jours, période à l'issue de laquelle on a mis fin à l'expérience. Les souris moribondes ont été euthanasiées.

Résultats :

Les résultats respectifs concernant la survie obtenus dans les quatre groupes de souris sont présentés à la Figure 2. Comme le montre cette figure, 60 % des animaux du groupe
20 TÉMOIN, du groupe PTL et du groupe MCTNT étaient encore en vie après 70 jours ; en revanche, le taux de survie a été de 100 % dans le groupe PTL + MCTNT et les animaux ne présentaient aucun signe de maladie.

Exemple 3 : Comparaison de traitements utilisant des antagonistes des récepteurs des endothélines en combinaison avec le témozolomide :Méthodes expérimentales :

Les souris ont été randomisées dans 7 groupes de traitement 21 jours après l'injection intrathécale de cellules de glioblastome LN229 marquées à la luciférase (par la méthode générale décrite ci-dessus) (Jour 0) :

- un groupe de 10 souris (« groupe TÉMOIN ») qui n'ont reçu aucun traitement ;
- un groupe de 10 souris (« groupe TMZ ») qui ont reçu le traitement suivant : une administration orale de témozolomide à 7,5 mg/kg par jour pendant une semaine suivie d'une période de deux semaines sans traitement, puis à nouveau une administration orale de témozolomide à 7,5 mg/kg par jour pendant une semaine suivie d'une période de deux semaines sans traitement et ainsi de suite ;
- un groupe de 10 souris (« groupe Macitentan + TMZ ») qui ont reçu d'une part une administration orale de macitentan à 10 mg/kg chaque jour et d'autre part le témozolomide à la même posologie en termes de dose, voie d'administration et schéma de traitement que celle indiquée pour le groupe TMZ ;
- un groupe de 10 souris (« groupe Atrasentan ») qui ont reçu une administration intrapéritonéale d'atrasentan à 10 mg/kg chaque jour ;
- un groupe de 10 souris (« groupe Atrasentan + TMZ ») qui ont reçu l'atrasentan et le témozolomide aux mêmes posologies en termes de doses, voies d'administration et schémas de traitement que celles indiquées pour le groupe Atrasentan et pour le groupe TMZ, respectivement ;
- un groupe de 10 souris (« groupe Zibotentan ») qui ont reçu une administration orale de zibotentan à 20 mg/kg chaque jour ; et
- un groupe de 10 souris (« groupe Zibotentan + TMZ ») qui ont reçu le zibotentan et le témozolomide aux mêmes posologies en termes de doses, voies d'administration et schémas de traitement que celles indiquées pour le groupe Zibotentan et pour le groupe TMZ, respectivement ;

On a poursuivi le traitement pendant 120 jours, période à l'issue de laquelle on a mis fin à l'expérience. Les souris moribondes ont été euthanasiées.

Résultats :

Les résultats respectifs concernant la survie obtenus dans les sept groupes de souris sont présentés à la Figure 3. Comme le montre cette figure, toutes les souris des groupes Témoin, Atrasentan ou Zibotentan sont devenues moribondes au cours des 50-80 premiers 5 jours de l'étude et ont dû être euthanasiées. Les animaux des groupes TMZ, Atrasentan + TMZ ou Zibotentan + TMZ ont survécu plus longtemps, mais tous les animaux étaient moribonds à la terminaison de l'étude et ont dû être euthanasiés ; en revanche, toutes les souris du groupe Macitentan + TMZ étaient en vie et ne présentaient aucun signe de 10 maladie à la terminaison de l'étude, c.-à-d. 120 jours après l'injection de cellules tumorales. Après administration de luciférine, l'imagerie par bioluminescence utilisant un système IVIS a confirmé que les souris traitées par la combinaison macitentan + TMZ présentaient une maladie résiduelle imperceptible.

L'immunohistochimie effectuée sur des tumeurs des Exemples 1 et 2 en utilisant des anticorps anti-AKT phosphorylé et anti-MAPK a permis d'identifier une réduction 15 marquée de ces deux protéines chez les animaux traités par le macitentan. La réduction de ces protéines, qui est indicatrice d'une haute activité des voies de survie et de prolifération, a été beaucoup moins importante dans les tumeurs que présentaient les animaux traités par l'atrasentan ou le zibotentan (cet exemple). Le freinage des voies de survie et de prolifération sensibilise les cellules à la chimiothérapie et pourrait expliquer la forte 20 efficacité du macitentan utilisé en combinaison à une chimiothérapie.

Revendications

1. Produit contenant du macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci, pour une utilisation dans le traitement d'un gliome malin en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique, avec une radiothérapie ou avec à la fois un agent thérapeutique et une radiothérapie.
5
2. Produit selon la revendication 1, où le gliome malin est un glioblastome multiforme.
3. Produit de la revendication 1 ou 2, où le macitentan ou son sel pharmaceutiquement acceptable est destiné à être utilisé en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique ou avec à la fois un agent thérapeutique cytotoxique et une radiothérapie, ledit
10 agent thérapeutique cytotoxique étant sélectionné parmi des agents alkylants et des antimétabolites.
4. Produit de la revendication 3, où l'agent thérapeutique cytotoxique est un agent alkylant.
5. Produit de la revendication 4, où l'agent alkylant est le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
- 15 6. Produit de la revendication 3, où l'agent thérapeutique cytotoxique est un antimétabolite.
7. Produit de la revendication 6, où l'antimétabolite est le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.
8. Produit de l'une des revendications 1 à 7, où le macitentan ou son sel pharmaceutiquement acceptable est destiné à être administré par voie orale.
- 20 9. Produit de l'une des revendications 1 à 7, où le macitentan ou son sel pharmaceutiquement acceptable est destiné à être administré par voie intraveineuse ou intrapéritonéale.
10. Composition pharmaceutique contenant, comme principes actifs, du macitentan ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci en combinaison avec un agent

thérapeutique cytotoxique et avec au moins un excipient non toxique, pour une utilisation dans le traitement d'un gliome malin.

11. Composition pharmaceutique selon la revendication 10, pour une utilisation dans le traitement d'un glioblastome multiforme.

5 **12.** Composition pharmaceutique selon la revendication 10 ou 11, où l'agent thérapeutique cytotoxique est le témozolomide ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

13. Composition pharmaceutique selon la revendication 10 ou 11, où l'agent thérapeutique cytotoxique est le paclitaxel ou un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci.

10 **14.** Utilisation de macitentan ou d'un sel pharmaceutiquement acceptable de celui-ci en combinaison avec un agent thérapeutique cytotoxique pour la préparation d'un médicament destiné à être utilisé dans le traitement d'un gliome malin, en option en association avec une radiothérapie.

15. Utilisation selon la revendication 14, où le gliome malin est un glioblastome multiforme.

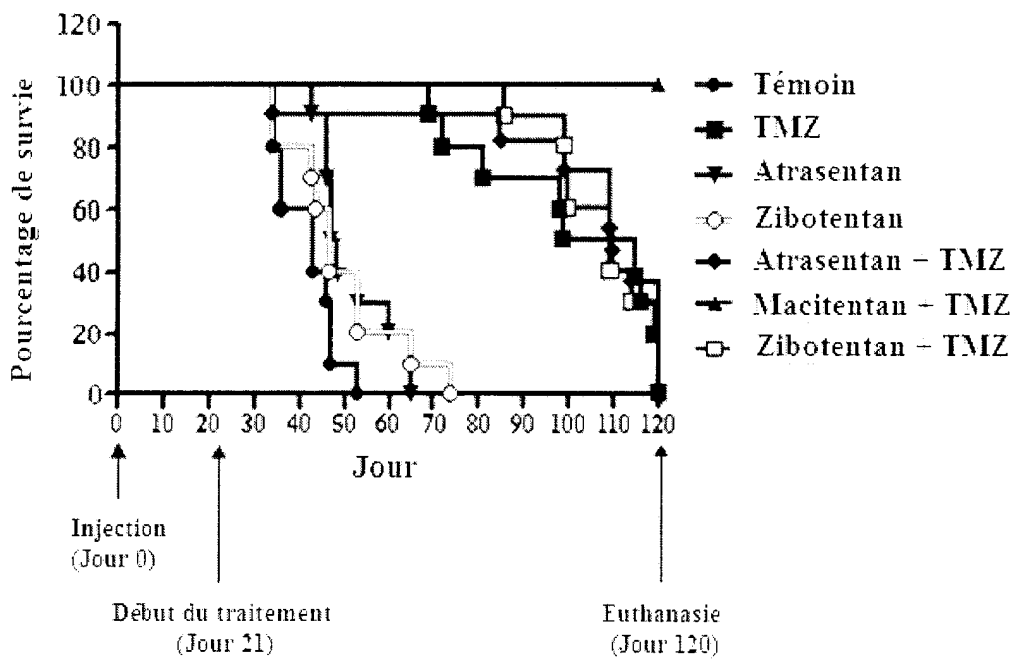


Figure 3

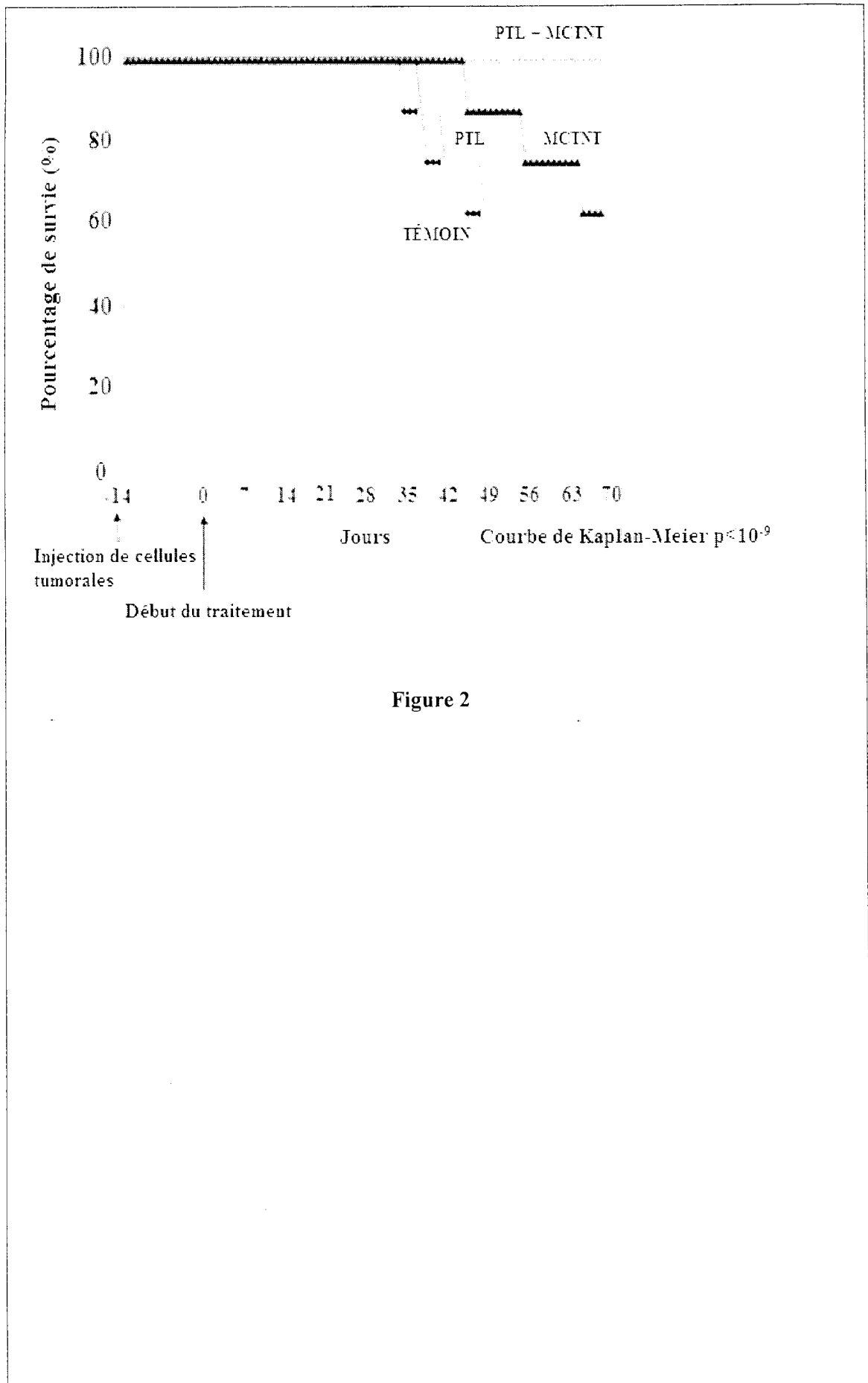


Figure 2

1

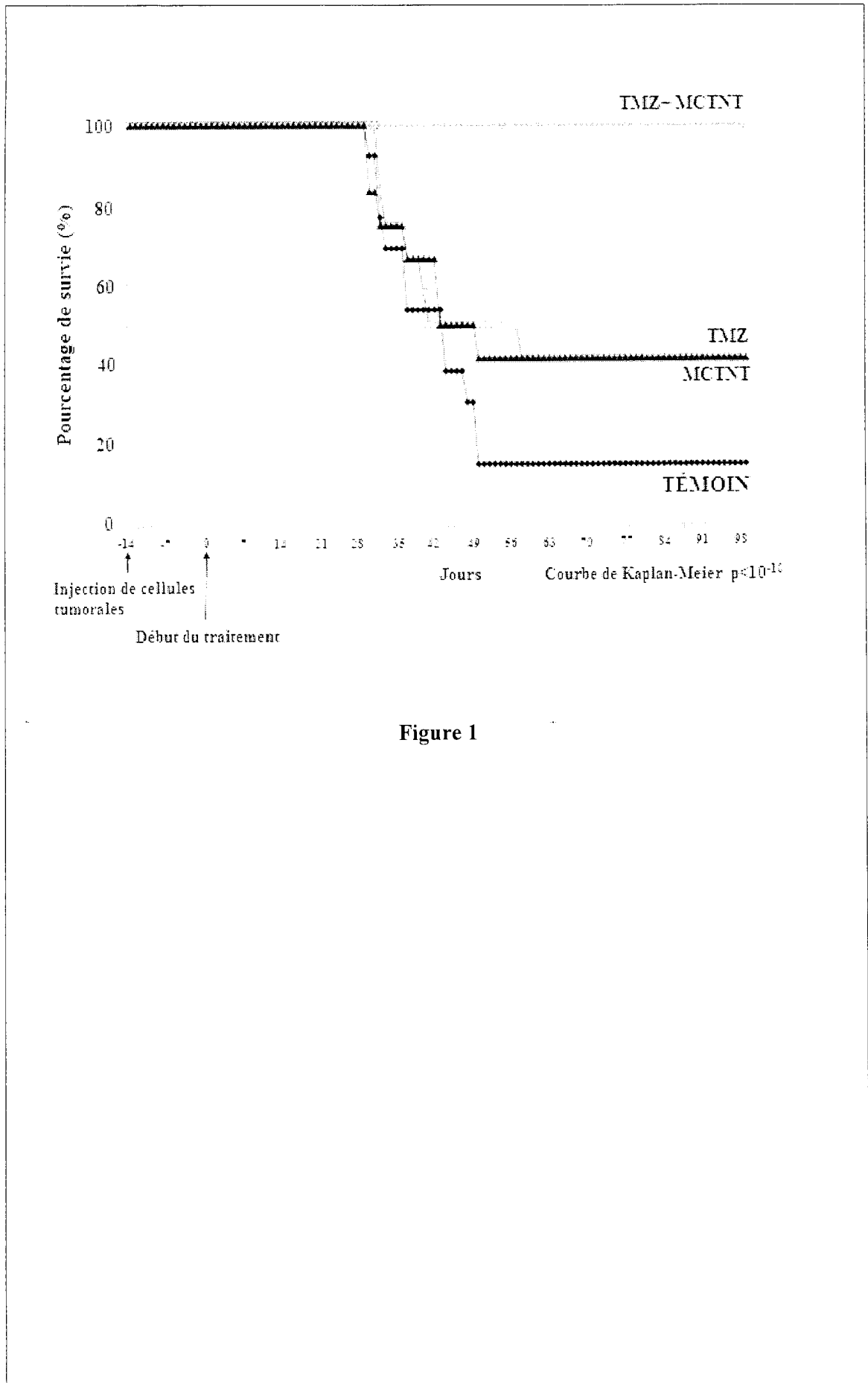


Figure 1

①