



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 359 465**

51 Int. Cl.:

A61K 49/00 (2006.01)

A61P 35/02 (2006.01)

A61K 31/00 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07842842 .2**

96 Fecha de presentación : **20.09.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2068938**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.06.2009**

54

Título: **Optimización del tratamiento de leucemia de filadelfia positiva con el imatinib inhibidor de la tirosina quinasa ABL.**

30

Prioridad: **22.09.2006 US 826622 P**
05.10.2006 US 828278 P

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.05.2011

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.05.2011

73

Titular/es: **NOVARTIS AG.**
Lichtstrasse 35
4056 Basel, CH

72

Inventor/es: **Gathmann, Insa;**
Mahon, François-Xavier;
Molimard, Mathieu;
Picard, Stéphane y
Wang, Yanfeng

74

Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 359 465 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Optimización del tratamiento de leucemia de filadelfia positiva con el imatinib inhibidor de la tirosina quinasa ABL

La presente invención se relaciona con el uso de la sal mono-mesilato de imatinib, para tratar la leucemia positiva para Filadelfia (leucemia Ph+) en una población de pacientes humanos. En un aspecto particular, la presente invención se relaciona con el uso de la sal mono-mesilato de imatinib, para tratar la leucemia mieloide crónica (CML) en una población de pacientes humanos.

En la CML una translocación cromosómica balanceada recíprocamente en células madre hematopoyéticas (HSCs) produce el gen híbrido BCR-ABL. Este último codifica la proteína de fusión oncogénica Bcr-Abl. Considerando que ABL codifica una proteína tirosina quinasa regulada firmemente, que juega un papel fundamental en la regulación de la proliferación, adherencia y apoptosis celular, el gen de fusión BCR-ABL codifica como quinasa activada constitutivamente, que transforma HSCs para producir un fenotipo que muestra la proliferación clonal desregulada, la capacidad reducida a la adherencia con el estroma de la médula ósea y una respuesta apoptótica reducida a los estímulos mutagénicos, que le permiten acumular progresivamente más transformaciones malignas. Los granulocitos resultantes no se desarrollan en los linfocitos maduros y se liberan en la circulación, que conduce a una deficiencia en las células maduras y susceptibilidad aumentada a la infección. Se ha descrito que, los inhibidores competitivos de ATP de Bcr-Abl previenen la quinasa a partir de la activación de rutas mitogénicas y anti-apoptóticas (por ejemplo quinasa P-3 y STAT5), que conducen a la muerte de las células del fenotipo BCR-ABL y proporcionando así una terapia efectiva contra CML.

En mayo del 2001, la sal de mesilato de N-{5-[4-(4-metil-piperazino-metil)-benzoilamido]-2-metilfenil}-4-(3-piridil)-2-pirimidina-amina (Mesilato de imatinib, STI571, Glivec®) fue aprobado por la FDA para el tratamiento de CML, en pacientes que no han podido beneficiarse de la terapia IFN-alfa. Ya en Junio 2000, los primeros pacientes con CML fueron incluidos en el Estudio Aleatorizado Internacional de Interferon y STI571 (IRIS). Esta ambiciosa prueba de 3 fases fue única tanto en tamaño como alcance. Los investigadores de IRIS, reclutaron a más de 1000 pacientes en 16 países para conducir un estudio comparativo entre Glivec e interferon-alfa (S.G. O'Brien, F. Guilhot, R.A. Larson, et al, N. Engl. J. Med. 2003, 348: 994-1004). El Imatinib a una dosis de 400 mg diarios ha mostrado una eficacia superior al IFN+Ara-C en pacientes recién diagnosticados con CML en fase crónica (CML-CP). Recientemente, los datos del seguimiento de cinco años del IRIS, indicaron una velocidad acumulada estimada de la respuesta citogénica completa (CCR) del 87% entre los pacientes que recibieron imatinib como tratamiento de primera línea y una supervivencia global del 89% (Druker BJ, Guilhot F, O'Brien SG, et al on behalf of the IRIS Investigators. Five-Year Follow-up of Imatinib Therapy for Newly Diagnosed Myeloid Leukemia in Chronic-Phase Shows Sustained Responses and High Overall Survival. New Eng J Med 2006; 355:2408-17). Cabe anotar que ningún paciente de los que alcanzaron la CCR y la respuesta molecular principal (MMR) dentro de los 18 meses del inicio de terapia ha progresado a una fase acelerada o blástica en los 60 meses.

Sin embargo, las respuestas variables al Mesilato de imatinib en el tratamiento de CML crónica no se conocen suficientemente. Estudios previos se centraron en los mecanismos celulares de resistencia al Imatinib. Considerando que el seguimiento farmacocinético, se utiliza ampliamente en diferentes especialidades médicas, tales como neurología, cardiología, y psiquiatría, rara vez esto se ha aplicado en la práctica oncológica clínica. Estudios farmacocinéticos en pacientes con CML que se tratan con Mesilato de imatinib, mostraron que las concentraciones mínimas en plasma de Imatinib se correlacionan con la dosis del Mesilato de imatinib, mientras que el peso corporal o superficie corporal son de menor importancia. Peng et al., determinó la concentración mínima de Imatinib en plasma y ajustó el régimen de Imatinib de acuerdo con los parámetros de concentración en plasma (Peng B., Hayes M., Resta, D. et al, J. Clin. Oncol. 2004, 22, 935-942). Mahon et al. (Blood. 106(11, Part 1). Nov. 16 2005. 565A) midió la concentración de Imatinib en sangre en apoyo del régimen de tratamiento.

La presente invención resuelve el problema de minimizar o evitar los temas de tolerancia, la falta de eficacia y el riesgo de recaída en pacientes humanos con CML que se tratan con un inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl. Basándose en el análisis de un estudio realizado en la Universidad de Burdeos y los datos del estudio IRIS que correlacionan los datos farmacocinéticos con la respuesta citogénica y molecular en pacientes recientemente diagnosticados con CML en fase crónica (CML-CP), en la actualidad se encontró sorprendentemente que el tratamiento de CML, utilizando un inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl, se puede optimizar ajustando la dosis del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl aplicada a un paciente individual, de manera que un nivel mínimo en plasma específico (Cmin), se logra en cada paciente individual. Un ajuste individual para cada paciente se necesita en vista de la alta intervariabilidad del paciente de los valores de Cmin, bajo la administración de la misma dosis del inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl a cada paciente como se observa en el estudio IRIS. La presente invención proporciona, por primera vez un programa de tratamiento individualizado para pacientes individuales con CML basándose en un umbral inferior de Cmin, el cual se ha demostrado que se correlaciona con una mayor probabilidad de supervivencia.

CML pertenece al grupo de leucemia Ph+. Los resultados obtenidos con la población de pacientes con CML descritos en este documento se pueden transferir directamente a todo el grupo de las leucemias Ph+. La razón de ello es que el rasgo de caracterización de leucemias Ph+, es la existencia del cromosoma Filadelfia causante de la proteína de fusión Bcr-Abl. Esta última proteína es el objetivo de todos los inhibidores de Bcr-Abl.

5 La abreviatura "Ph+ ALL" como se utiliza en este documento indica leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma de Filadelfia.

10 El término "respuesta molecular principal (MMR)" como se utiliza en este documento significa una reducción de 3 logaritmos en las transcripciones *BCR-ABL*, cuantificada de la sangre periférica utilizando la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa cuantitativa de tiempo real, preferiblemente después de 12 meses de terapia, por ejemplo terapia con Mesilato de imatinib de 12 meses.

El término "respuesta citogénica completa (CCR)" como se utiliza en este documento significa 0 % de metafases positiva para el cromosoma Filadelfia entre al menos 20 o 25 células en metafase en el aspirado de médula ósea (Colombat M, Fort MP, Chollet C, et al. Molecular remission in chronic myeloid leukemia patients with sustained complete cytogenetic remission after imatinib mesylate treatment. *Haematologica* 2006;91:162-8.).

15 El término "uso" como se utiliza en este documento se relaciona también con la prevención de las enfermedades mencionadas en este documento, i.e. la administración profiláctica de una composición farmacéutica que comprende un inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl de acuerdo con la invención a pacientes sanos para prevenir el desarrollo de las enfermedades mencionadas en este documento.

20 Los términos "ajuste de la dosis" y "la dosis de ... se ajustó" como se utiliza en este documento preferiblemente indica que la dosis se refiere a su aumento o disminución. En un sentido más amplio de la invención, los términos "ajuste de la dosis" y la "dosis de ... se ajustó" abarca una situación en donde la dosis se mantiene sin cambio.

25 El término "inhibidor de la tirosina quinasa Bcr-Abl" de acuerdo con la invención como se utiliza en este documento se relaciona con la sal de monomesilato de imatinib que muestra inhibición de c-Abl o Bcr-Abl, a partir de lisados de células transfectadas con un valor de IC50 por debajo de 0.1 μ M en ensayos de quinasa *in vitro* realizados en inmunoprecipitados en un ensayo como se describe por B.J. Druker et al in *Nat. Med.* 1996, 2, 561-566. ng/mL. El límite superior del nivel de plasma corresponde al nivel más cercano por debajo del nivel sanguíneo que causa la toxicidad limitante de la dosis (DLT) en un paciente individual. Por lo general, el rango superior observado es aproximadamente 3500 ng/mL, algunas veces alrededor de 3000 ng/mL.

30 La presente invención se refiere a un método para tratar una leucemia Ph+, especialmente CML o Ph+ ALL, en un paciente humano que comprende las etapas de

(a) administración de una cantidad fija predeterminada de imatinib, en una dosis oral diaria de 200 mg o 800 mg de la sal de monomesilato de Imatinib, con el paciente humano que sufre de una leucemia Ph+,

(b) recolección de al menos una muestra de sangre de dicho paciente, por ejemplo en los primeros 3 meses de tratamiento,

35 (c) determinación de la Cmin de Imatinib, y

(d) ajuste de la dosis de imatinib o una sal farmacéuticamente aceptable de este de una manera que una Cmin de entre 1000 y aproximadamente 3000 ng/mL de Imatinib se logra en dicho paciente, cuando el paciente no alcanza una Cmin entre 1000 y 3000 ng/ml, después de la administración de la cantidad fija predeterminada

40 La dosis de la sal farmacéuticamente aceptable de Imatinib se ajustó preferiblemente de una manera que una Cmin entre aproximadamente 1000 y aproximadamente 3000 ng/mL de Imatinib se logra en dicho paciente, más preferiblemente una Cmin de aproximadamente 1000 ng/mL.

45 El imatinib se metaboliza a través del sistema citocromo P450, CYP3A4 es la principal isoenzima responsable del metabolismo de imatinib, aunque CYP1A2, CYP2D6, CYP2C9, y CYP2C19 también contribuyen en menor medida. Un metabolito principal, N-{5-[4-(piperazino-metil)-benzoilamido]-2-metilfenil}-4-(3-piridil)-2-pirimidinaamina (CGP74588), se observa en sangre que tiene una actividad biológica similar como el Imatinib y representa aproximadamente 20% del nivel del fármaco original en plasma en pacientes. Debido a la variabilidad intrínseca de la actividad de la enzima CYP (Wilkinson GR, *J Pharmacokinet Biopharm.* 1996; 24:475-90.) la variabilidad alta interpaciente se ha reportado en la exposición de imatinib en pacientes con CML (Peng BM Hayes M, Resta D, et al. *J Clin Oncol.* 2004;22:935-42). Se ha demostrado que los fármacos que inhiben o inducen la isozima CYP3A4 influyen la farmacocinética del imatinib (Bolton AE, Peng B, Hubert M, et al. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;53:102-106; Dutreix C, Peng B, Mehring G, et al. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2004;54:290-294; Smith PF,

Bullock JM, Booker BM, et al. *Pharmacother.* 2004;24(11):1508-1514; Frye RF, Fitzgerald SM, Lagattuta TF, Hruska MW, Egorin MJ. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;76:323-329).

A lo largo de la presente invención la sal mono-mesilato de Imatinib se utiliza en la etapa (a), por ejemplo en una dosis oral diaria de entre 200 y 800 mg, preferiblemente en una dosis diaria de 400 mg.

- 5 Los métodos descritos en este documento son particularmente benéficos para pacientes con CML que tienen una puntuación Intermedia en la escala de Sokal (ISS). Los métodos para determinar la ISS son conocidos por alguien de habilidad en el oficio.

10 Otro aspecto importante de la presente invención, es el uso de Mesilato de imatinib, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una leucemia Ph+, en donde la dosis de la sal farmacéuticamente aceptable se ajustó de una manera que una Cmin de al menos 1000 ng/mL de Imatinib, se conserva en dicho paciente.

Breve discusión de las Figuras

15 **Fig. 1:** Análisis de la curva ROC. El análisis de la curva de característica operativa del receptor (ROC), se llevó a cabo con el fin de evaluar una potencial discriminación de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma para MMR, y para identificar un umbral en plasma de la sensibilidad y especificidad óptima. El área bajo la curva ROC (AUC) fue 0.775, con mejor sensibilidad (76.5 por ciento) y especificidad (70.6 por ciento) en un umbral en plasma de 1002 ng por mililitro. Este umbral de 1002 ng por mililitro, se asoció significativamente con la presencia de MMR (cociente de probabilidades ajustado, 7.83; 95 por ciento de intervalo de confianza, 2.58 a 23.76; $P < 0.001$).

20 **Fig. 2:** Gráfico box-plot. MMR significa la respuesta molecular principal (3 log de reducción en los niveles de transcripción de *BCR-ABL*). La gráfica muestra la dispersión en torno a la mediana, de pacientes con MMR (34 pacientes, mediana=1350.2 ng por mililitro) y aquellos sin (34 pacientes, mediana=885.5 ng por mililitro). La línea a través de cada caja es la mediana. El borde inferior es el primer cuartil y el borde superior es el tercer cuartil. Las barras de error representan los valores mínimos y máximos. La línea inferior muestra la concentración diana de 493.6 ng por mililitro (1 micromol por litro), necesaria para dar lugar a la muerte celular positiva de BCRABL *in vitro*. La línea superior muestra el umbral eficiente de 1002 ng por mililitro en plasma para las concentraciones mínimas de Imatinib en el tratamiento de CML.

Fig. 3 muestra la variabilidad del nivel de Cmin de Imatinib observado en el estudio IRIS, en todos los pacientes que obtuvieron la misma dosis diaria de 400 mg del Mesilato de imatinib.

Fig. 4 muestra la distribución de imatinib a través de niveles a 400 mg diarios en el Día 29 (n=351).

Fig. 5 muestra el nivel mínimo de Imatinib por el peso corporal (BW) o área de la superficie corporal (BSA).

30 **Fig. 6** muestra CCR o MMR por nivel mínimo del imatinib (Día 29).

Fig. 7 muestra los niveles mínimos en plasma correspondientes para el logro de CCR y no-CCR en pacientes CML-CP. Las paredes de fondo y superior de cada caja representan los percentiles 75 y 25. Los bigotes (barras de error) arriba y abajo de la caja indican los percentiles 90 y 10, y los puntos representan los percentiles 95 y 5.

35 **Fig. 8** representa la supervivencia libre de evento (EFS), agrupada sobre la base de cuartiles del nivel PK de Imatinib. El grupo Q1 se describe por la línea inferior, el grupo Q2-Q3 corresponde a la línea en el medio y el grupo Q4 se representa por la línea más alta.

A los efectos de la presente invención, el Imatinib se aplica en la forma de su sal mono-mesilato. El mono-mesilato de imatinib, también se puede preparar de acuerdo con los procesos revelados en US 6,894,051. También se componen de los correspondientes polimorfos, por ejemplo modificaciones de cristal, que se revelan en este.

40 En la etapa (a) del uso descrito anteriormente, una dosis diaria de entre 200 y 800 mg, por ejemplo 400 mg, de la sal monomesilato de Imatinib se administra por vía oral. El mono-mesilato de imatinib se puede administrar en formas de dosificación como se describe en US 5,521,184, US 6,894,051, US 2005-0267125 o WO2006/121941.

45 La recolección de una muestra de sangre de pacientes con CML necesaria en la etapa (b) de los usos descritos en este documento, se puede lograr por procedimientos estándar que se manifiestan del oficio. Un procedimiento apropiado para la determinación de la nivel mínimo en plasma Cmin de Imatinib y N-[5-[4-(piperazino-metil)-benzoilamido]-2-metilfenil]-4-(3-piridil)-2-pirimidina-amina como se describe por R. Bakhtiar R et al. en *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2002 Mar 5;768 (2):325-40.

Ejemplos

Los siguientes ejemplos son ilustrativos, para sugerir un método de práctica de la presente invención. Las cantidades de ingredientes, representadas por el porcentaje en peso de la composición farmacéutica, utilizadas en cada ejemplo se exponen a continuación.

5 EJEMPLO 1 - Diseño del Estudio, Análisis Estadístico y Resultados del Estudio de Burdeos**PACIENTES**

Los pacientes incluidos en el estudio se encontraban en fase crónica o fase-acelerada de CML. Fueron seguidos en el Departamento de Hematología y Enfermedades Sanguíneas del Hospital Centro de Burdeos (CHU de Burdeos) y en el Institut Bergonié, Regional Cancer Center. Todos los pacientes fueron tratados por vía oral con una dosis estándar del Mesilato de imatinib (i.e. 400 mg o 600 mg una vez al día para los pacientes con fase crónica o fase-acelerada de CML, respectivamente) durante al menos 12 meses. En la población de estudio, las recolecciones de las muestras de sangre se llevaron a cabo entre Junio del 2004 y Marzo del 2006, con el fin de probar la asociación entre las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma y la respuesta al tratamiento. Los criterios de exclusión fueron el inicio de la terapia con Mesilato de imatinib, por lo menos un año antes de una crisis blástica, antes de o durante la terapia con Mesilato de imatinib, la recolección de la sangre se realiza fuera de los límites de tiempo en la concentración, cumplimiento pobre al tratamiento, identificación de mutación(s) del gen en el dominio quinasa de Bcr-Abl.

CUANTIFICACIÓN DE LA RESPUESTA DE LA TERAPIA

La respuesta citogénica a la terapia con Mesilato de imatinib fue evaluada utilizando un análisis convencional citogenético de metafases de médula ósea. Los pacientes con respuesta citogenética fueron definidos como que tienen CCR, i.e. 0 por ciento de metafases de cromosoma Filadelfia positivo entre al menos 25 células en metafase en el aspirado de médula ósea (Colombat M, Fort MP, Chollet C, et al. Haematologica 2006;91:162-8.). El ensayo de reacción en cadena de polimerasa transcriptasa reversa cuantitativa de tiempo real, fue utilizado para evaluar los niveles de transcripción de *BCR-ABL* y cuantificar la respuesta molecular (Colombat M, Fort MP, Chollet C, et al. ver arriba). En resumen, sangre periférica anticoagulada-EDTA se recolectó para realizar la extracción de ARN seguido por la reacción en cadena de la polimerasa transcriptasa reversa cuantitativa de tiempo real. El ARN total fue extraído a partir de células de sangre periférica de pacientes utilizando métodos estándar. La cuantificación de las transcripciones *BCR-ABL* se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones propuestas recientemente para la armonización de resultados (Hughes TP, Deininger M, Hochhaus A, et al. Blood 2006;108:28-37.). Por consiguiente, los resultados se expresaron utilizando el gen ABL como el gen control y fueron expresados como el porcentaje de *BCR-ABL* / ABL. Una línea base estandarizada se calculó midiendo la relación de *BCR-ABL* / ABL en 40 pacientes de fase crónica con CML de la sangre recolectada antes de cualquier tratamiento. Para cada muestra, esta línea base fue utilizado para evaluar y calcular la reducción de la transcripción *BCR-ABL*. Una MMR fue definida como una reducción en niveles de transcripción de *BCR-ABL* de al menos 3 log después de 12 meses de terapia con Mesilato de imatinib (Hughes TP, Kaeda J, Branford S, et al. International Randomised Study of Interferon versus ST1571 (IRIS) Study Group. N Engl J Med 2003;349:1423-32.).

CUANTIFICACIÓN DE CONCENTRACIONES DE IMATINIB EN PLASMA

Las muestras de sangre para la cuantificación en plasma del Imatinib, fueron recolectadas en estado estacionario entre 21 y 27 horas después de la última administración del fármaco. Las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma se determinaron utilizando cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem con ionización por electrospray (Titier K, Picard S, Ducint D, et al. Ther Drug Monit 2005;27:634-40. [Erratum, Ther Drug Monit 2005;27:810.]). Las muestras de referencia puras de Mesilato de imatinib y su estándar interno (Imatinib-D8) fueron donadas gentilmente por Novartis (Rueil-Malmaison, France). La preparación de la muestra consistió de una extracción líquido-líquido, se realiza a partir de 200 microlitros de plasma. Luego, 5 microlitros de extracto fueron inyectados en el sistema cromatográfico. La unidad de cromatografía líquida de alta resolución consistió de un módulo de separación Alliance® 2690 (Waters, Milford, MA, USA) dirigido por el software Masslynx®. El Imatinib y el Imatinib-D8 se separaron en una columna de fase reversa (X-Terra® RP18, [100x2.1 milímetros, 5 micrómetros], Waters) con un gradiente de solución reguladora acetonitrilo-formiato. El tiempo de corrida total del análisis fue 6 minutos a una velocidad de flujo de 0.3 mililitros por minuto. La cuantificación del Imatinib se llevó a cabo utilizando espectrometría de masas en tándem (QuattroMicro®, Waters, Milford MA, USA) con una interfaz de ionización por electrospray en modo de ion positivo. El voltaje de cono se fijó a 40 voltios para Imatinib y su estándar interno, y la energía de colisión se fijó a 30 voltios de electrones para los dos compuestos. El Imatinib y el Imatinib-D8 se detectaron en transiciones de monitoreo de reacción múltiple. Para cuantificar el Imatinib, el área del pico correspondiente a la reacción m/z 494.2 → 394.1 (Imatinib) se midió en relación con el área de la reacción m/z 502.2 → 394.1 (estándar interno). La identificación del Imatinib se confirmó por una segunda transición de monitoreo de reacción múltiple específica: m/z 494.2 → 217.2.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En cuanto a las variables cuantitativas, las comparaciones de las medias entre dos grupos se realizaron utilizando test t de Student o el test de Wilcoxon de rangos cuando sea apropiado. En la presencia de más de dos grupos, un análisis de varianza o un test de Kruskal-Wallis fue utilizado. En cuanto a las variables cualitativas, las comparaciones de proporciones se realizaron utilizando un test χ^2 o test de Fisher exacto cuando sea apropiado. En estado estacionario, la variabilidad en las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma se expresó por los siguientes parámetros: media de las concentraciones mínimas en plasma, desviación estándar (SD), coeficiente de variación, mediana, cuartiles primero y tercero, máxima y mínima concentraciones mínimas en plasma medidas.

Para CCR y MMR sucesivamente, el grupo de pacientes con respuesta y el grupo de pacientes que no respondieron se compararon con respecto a sus concentraciones medias mínimas de Imatinib en plasma. Se investigó una posible asociación entre MMR y las siguientes variables: las características cuantitativas tales como edad y la puntuación de la escala de Sokal; y las características cualitativas tales como sexo, grupo de riesgo Sokal, fase-acelerada de CML en el inicio de terapia con Mesilato de imatinib, administración de interferon antes del tratamiento con Mesilato de imatinib, nivel de dosis diaria de Mesilato de imatinib. Cualquier relación entre los niveles de transcripción de *BCR-ABL* y el intervalo de tiempo desde la fecha de inicio del tratamiento con Mesilato de imatinib a la fecha del análisis molecular, se evaluó.

El análisis de la curva ROC, se llevó a cabo con un modelo de regresión logística multivariada, ajustada por la edad y sexo, con el fin de evaluar una potencial discriminación de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma para MMR, y para identificar un umbral en plasma de la sensibilidad y especificidad óptima. Los resultados fueron expresados como cociente de probabilidades ajustado; 95 por ciento del intervalo de confianza; valor P del test de Wald.

Los valores P a dos caras fueron reportados para los tests estadísticos ($P < 0.05$ significancia indicada). Todos los análisis se hicieron utilizando el Software SAS (versión 9.1, Cary, NC, USA).

PACIENTES INCLUIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

Noventa y cinco pacientes con CML, fueron considerados para la participación en el estudio. Un paciente fue excluido porque se encontró en crisis blástica. Veinticuatro pacientes fueron excluidos debido a una inadecuada recolección de la sangre i.e. se realiza fuera de los límites del tiempo para la determinación de la concentración mínima del imatinib. Un paciente fue excluido debido al reconocido cumplimiento pobre a la terapia con imatinib: este paciente no respondió hematológicamente y tuvo niveles de imatinib en plasma por debajo de 10 ng por mililitro. Un paciente fue excluido debido a que la mutación G250E fue identificada en el dominio quinasa de Bcr-Abl. Finalmente, 68 pacientes con CML fueron incluidos para la investigación. Cincuenta pacientes y 18 pacientes fueron tratados respectivamente con 400 mg y 600 mg de imatinib una vez al día.

VARIABILIDAD EN CONCENTRACIONES MÍNIMAS DE IMATINIB EN PLASMA ENTRE PACIENTES

Las variaciones en las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma para cada régimen de dosis diaria de Mesilato de imatinib (400 mg y 600 mg) se muestran en la Tabla 1.1. Estas concentraciones de Imatinib fueron muy variables fluctuando entre 181 a 2947 ng por mililitro, confirmando la alta variabilidad previamente descrita entre los sujetos en las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma para una dosis diaria dada (Peng B, Hayes M, Resta D, et al. J Clin Oncol 2004;22:935-42.)

Tabla 1.1 Variabilidad en las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma entre pacientes (n=68)*.

Nivel de dosis diaria	Dispersión en torno a la media			Mediana	Q 25†	Q 75 ‡	Mínimo	Máximo
	Valor medio	SD §	CV¡					
400 mg	1058	557	52.6	997	722	1285	181	2947
600 mg	1444	710	49.2	1315	902	1629	603	2922

* Los parámetros de variaciones en las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma se expresan en ng por mililitro y se reportan para cada régimen de dosis diaria de Mesilato de imatinib: 400 mg (50 pacientes) y 600 mg (18 pacientes). Estos datos resultan del análisis de las muestras de sangre recolectadas, en estado estacionario (utilizando cromatografía líquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas en tándem con ionización por electrospray), en los 68 pacientes con CML incluidos en el estudio.

† Q 25 es el primer cuartil.

‡ Q 75 es el tercer cuartil.

§ SD es la desviación estándar.

¡ CV es el coeficiente de variación expresado en porcentaje.

40

CARACTERÍSTICAS DEL PACIENTE DE ACUERDO CON LAS RESPUESTAS AL IMATINIB

De los 68 pacientes con CML incluidos para la investigación, 56 lograron una CCR después de al menos un año de tratamiento. Las medias (\pm SD) de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma fueron 1123.3 \pm 616.6 ng por mililitro y 694.2 \pm 556.0 ng por mililitro en pacientes con CCR (56 pacientes) y sin CCR (12 pacientes), respectivamente ($P=0.02$). En cuanto a la respuesta molecular, las características principales de los 68 pacientes con CML, clasificados como aquellos con o sin MMR, se resumen en la Tabla 1.2. La media de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma fueron significativamente superiores en el grupo con MMR (1452.1 \pm 649.1 ng por mililitro) que en el grupo sin (869.3 \pm 427.5 ng por mililitro, $P<0.001$). No se encontraron diferencias significativas en la dosis diaria del Mesilato de imatinib entre pacientes con o sin MMR. Además, la MMR para Imatinib no se relacionó con las siguientes características: los datos clínicos (edad, sexo), fase-acelerada de CML en el inicio de la terapia con Mesilato de imatinib, administración de interferon antes del tratamiento con Mesilato de imatinib. Adicionalmente, la MMR al tratamiento no se asoció estadísticamente con el tiempo transcurrido entre el inicio de terapia con Mesilato de imatinib y el análisis molecular: los valores medios (\pm SD) fueron 986.5 \pm 427 días y 966.5 \pm 560 días en grupos con y sin MMR, respectivamente ($P=0.87$). Cuatro grupos de pacientes se compararon de acuerdo con la fecha de su análisis molecular (utilizando un test de Kruskal-Wallis): dentro de los 560 días del inicio de tratamiento con Mesilato de imatinib (16 pacientes), entre 560 y 900 días después del inicio de tratamiento con Mesilato de imatinib (18 pacientes), entre 900 y 1325 días después de (17 pacientes), más de 1325 días después del inicio de tratamiento con Mesilato de imatinib (17 pacientes). El test demostró que no hubo diferencia significativa en los niveles de transcripción de *BCR-ABL* entre los cuatro grupos ($P=0.48$). La velocidad de respuesta molecular por consiguiente no fue dependiente del tiempo, en nuestra investigación.

Tabla 1.2. Las características del paciente de acuerdo con respuesta molecular a la terapia con Imatinib.

Características	Sin MMR *		Con MMR		valor P [†]
	No. ‡	datos §	No.	datos	
Rasgos cuantitativos					
Concentraciones mínimas de imatinib en plasma	34	869.3 \pm 427.5	34	1452.1 \pm 649.1	< 0.001
Edad	34	50.7 \pm 13.6	34	51.7 \pm 13.7	0.76
Puntuación en la escala de Sokal	32	0.9 \pm 0.4	33	1.0 \pm 0.4	0.33
Rasgos cualitativos					
Sexo					0.09
Género masculino	24	70.6	17	50.0	
Género femenino	10	29.4	17	50.0	
Grupo de riesgo Sokal					0.69
< 0.8	15	44.1	14	41.2	
[0.8-1.2]	12	35.3	11	32.4	
> 1.2	5	14.7	8	23.5	
Fase acelerada de CML					0.58
no	26	76.5	24	70.6	
si	8	23.5	10	29.4	
Interferon antes de imatinib					0.62
no	15	44.1	13	38.2	
si	19	55.9	21	61.8	
Dosis diaria de imatinib					1.00
400 mg	25	73.5	25	73.5	
600 mg	9	26.5	9	26.5	

* MMR significa respuesta molecular principal (3 log de reducción en niveles de transcripción de *BCR-ABL*). Las características principales de los 68 pacientes con CML se clasifican en aquellos con o sin MMR.

Valor P fue evaluado utilizando el test t de Student para las variables cuantitativas y el test χ^2 para las variables cualitativas.

No.‡ es el número de pacientes.

Datos § son los valores de la media (\pm desviación estándar) de las características cuantitativas. Los datos son proporciones en porcentaje de las características cualitativas.

† Concentraciones mínimas de Imatinib en plasma se expresan en ng por mililitro.

UMBRAL MÍNIMO EN PLASMA DE IMATINIB DE LA RESPUESTA MOLECULAR PRINCIPAL

El análisis de la curva ROC efecto concentración probó la potencial discriminación de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma para MMR (Fig. 1). En este último caso, el área bajo la curva ROC fue 0.775, con mejor sensibilidad (76.5 por ciento) y especificidad (70.6 por ciento) en un umbral en plasma de 1002 ng de Imatinib por mililitro. Este umbral de 1002 ng por mililitro se asoció significativamente con la presencia de MMR (cociente de

probabilidades ajustado, 7.83; 95 por ciento de intervalo de confianza, 2.58 a 23.76; $P < 0.001$). Box-plots de las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma mostró la dispersión en torno a la mediana (Fig. 2) para los pacientes con MMR (34 pacientes, mediana=1350.2 ng por mililitro) y aquellos sin (34 pacientes, mediana=885.5 ng por mililitro). En el grupo con MMR, 26 pacientes (76.5 por ciento) de los 34 pacientes tuvieron las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma que exceden el umbral de 1002 ng por mililitro y no hubo ningún paciente que tenga las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma por debajo de 493.6 ng por mililitro (1 micromol por litro) que es la concentración diana descrita inicialmente, necesaria para dar lugar a la muerte celular *BCR-ABL*-positiva *in vitro*. En el grupo sin MMR, 24 pacientes (70.6 por ciento) de los 34 pacientes tuvieron las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma por debajo del umbral de 1002 ng por mililitro y hubo 7 pacientes (20.6 por ciento) que tienen las concentraciones mínimas de Imatinib en plasma por debajo de 493.6 ng por mililitro (1 micromol por litro).

EJEMPLO 2 - Análisis de los datos del Estudio IRIS

En este estudio, los niveles mínimos en plasma de Imatinib en el estado estacionario después del primer mes de tratamiento (Día 29) comprobaron que eran un pronóstico significativo covariable para respuestas clínicas a largo plazo en pacientes con CML.

La variabilidad de la exposición al Imatinib tiene implicaciones clínicas. El logro de una CCR es un sustituto válido para el beneficio clínico en CML y una medida apropiada de inicial eficacia antileucémica. Los tiempos para CCR y para MMR dentro de pacientes CCR fueron significativamente diferentes entre pacientes con diferentes exposiciones en plasma del Imatinib agrupados en cuartiles ($p < 0.025$). Los pacientes que logran CCR por un año tuvieron concentraciones en estado estacionario de Imatinib después de un mes que fueron mayores de aquellos que no logran CCR. Todos los valores C_{min} fueron estadísticamente significativamente superiores en pacientes que lograron CCR durante el estudio (media 1009 ng/mL vs 812 ng/mL). De esta manera, manteniendo un nivel mínimo de Imatinib en o por encima de 1000 ng/mL puede ser importante para CCR. Este resultado es consistente con el valor umbral de aproximadamente 100 ng/mL encontrado en el Ejemplo 1.

En este análisis, suponemos que los pacientes mantuvieron la adherencia a la terapia con Imatinib, tanto durante el primer como en los posteriores meses. Sin embargo, esta es una variable desconocida a pesar de los registros de los pacientes sometidos a dosificación durante esta prueba. Mientras que la adherencia a la terapia es un factor crítico para la exactitud y la validez del análisis farmacocinético, fue razonable asumir que los niveles de imatinib en plasma y CGP74588 fueron en el estado estacionario en el Día 29 en este estudio clínico bien monitoreado. Los pacientes reclutados en este estudio nuevamente fueron diagnosticados con una enfermedad que amenaza la vida y en las primeras etapas de tratamiento - un punto cuando hubo gran incentivo para tomar dosis diarias de Imatinib, un fármaco relativamente bien tolerado. Altos niveles de no-adherencia al Imatinib en este estudio fueron poco probables para la mayoría de los pacientes. Fuera de los 553 pacientes reclutados en la rama del tratamiento con Imatinib, casi el 20% de los pacientes tuvieron un aumento en la dosis por una razón clínica a dosis diarias de 600-800 mg, el tiempo medio para el aumento en la dosis fue 22 meses (Los datos no se muestran). La no-adherencia al Imatinib ha sido documentada en pacientes con CML y podría haber afectado las respuestas clínicas y la correlación entre la respuesta clínica y la exposición mínima PK.

Encontramos una correlación entre las velocidades de MMR y la exposición al Imatinib. La velocidad de MMR estimada fue significativamente inferior en pacientes con niveles bajos de Imatinib; solo un estimado del 25% de todos los pacientes con niveles de Imatinib < 647 ng/mL lograron una MMR en 1 año, mientras que el 40% de los pacientes con niveles más altos de Imatinib lograron esta respuesta dentro de 1 año. A los 4 años, un estimado del 53% de pacientes en Q1 ha logrado una MMR a pesar de los bajos niveles de Imatinib de estado estacionario (día 29) en comparación con el 80% de pacientes en Q4 (y 72 % de los pacientes dentro del rango inter-cuartil, IQ). Una MMR es pronóstico de la eficacia y supervivencia a largo plazo. Los pacientes que carecen de MMR han aumentado las velocidades de progresión de la enfermedad. De esta manera el ajuste temprano de la dosis para los pacientes con niveles bajos de Imatinib en el estado estacionario, puede mejorar la eficacia a largo plazo.

Además de las velocidades de respuesta CCR y MMR, nivel mínimo PK de imatinib parece que se correlaciona algo con la supervivencia libre de evento (EFS), aunque no se logró ninguna diferencia estadísticamente significativa. La supervivencia libre de evento es un evento complicado que se puede confundir con muchos diferentes factores tales como accesibilidad de otros tratamientos, aumento en la dosis intrapaciente en el último momento del periodo de tratamiento, etc. No obstante, los pacientes con un bajo nivel mínimo de Imatinib, tienden a tener una EFS más pobre que los pacientes con niveles más altos de Imatinib. Como se espera, la exposición al Imatinib se correlacionó con la velocidad de interrupción. Los pacientes en el cuartil más bajo tuvieron la velocidad de interrupción más alta que en los cuartiles inter y superior. Curiosamente, una de las razones para la interrupción se relacionó con el efecto terapéutico no satisfactorio, que fue consistente con los hallazgos de los análisis de correlación entre la respuesta clínica (CCR o MMR) y las concentraciones del imatinib cuartil.

Nuestro informe describe el nivel mínimo de Imatinib en el estado estacionario. Resultados similares se observaron para el principal metabolito activo, CGP74588. Sin embargo, considerando la contribución relativamente pequeña del metabolito para la exposición al Imatinib ($< 20\%$), la medición del fármaco original en el plasma representa el

principal componente activo para la actividad biológica. Si el metabolismo de Imatinib fuera alterado, por ejemplo por un inductor CYP o inhibidor, la medición de tanto el Imatinib como del metabolito puede ser necesaria.

5 En conclusión, la exposición en plasma del Imatinib en estado estacionario medida después del primer mes de tratamiento con un estándar de 400 mg de dosis correlacionada con las respuestas citogénica y molecular a largo plazo. Los parámetros demográficos del paciente incluyendo edad, género, y tamaño corporal tienen impacto mínimo sobre la exposición plasmática al Imatinib considerando la gran variabilidad inter-paciente de la exposición. El mantenimiento de los niveles mínimos en plasma en o por encima de la concentración de la población media de aproximadamente 1000 ng/mL, puede ser importante para la respuesta CCR y MMR, supervivencia libre, y eficacia terapéutica satisfactoria en pacientes de fase crónica con CML. Cualquiera de los factores que pueden afectar la exposición al Imatinib, tales como absorción del fármaco, metabolismo, e interacciones entre las medicaciones prescritas, lo que puede afectar la capacidad de lograr un beneficio terapéutico máximo. La información respecto a la exposición en sangre del Imatinib durante la terapia tiene el potencial para servir como una herramienta valiosa y merece la validación prospectiva.

Métodos

15 Los pacientes incluidos en este análisis se reclutaron en la prueba IRIS y se asignaron al azar en el inicio del tratamiento con Imatinib a 400 mg/día. El diseño del estudio y las características del paciente para todos los 553 pacientes asignados al azar al Imatinib incluyendo la edad, el género, el peso corporal, el área de la superficie corporal, así como los resultados se han descrito previamente (O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al. N Eng J Med. 2003; 348:994-1004.).

20 Las velocidades de CCR (definida como 0% de las células de metafase Ph+ fuera de al menos 20 examinados) en la población de estudio y la respuesta molecular principal (MMR, definida como reducción ≥ 3 log en la relación BCR-ABUBCR de una línea base estandarizada) en sujetos que lograron CCR antes, fueron reportadas previamente (O'Brien SG, Guilhot F, Larson RA, et al., ver arriba).

25 Este Ejemplo se centra en aquellos 351 pacientes con mediciones de PK disponibles. La supervivencia libre de evento (EFS), se evaluó un máximo de 5 años y se midió desde la inscripción en la prueba clínica hasta cualquiera de los siguientes eventos: muerte por cualquier causa, pérdida de una MMR, pérdida de una respuesta hematológica completa, o progresión a una fase acelerada o blástica. Los pacientes vivos fueron censurados para supervivencia en el último seguimiento. Las CCR fueron evaluadas hasta 5 años. El logro de MMR se analizó solo hasta 24 meses después de iniciar el tratamiento debido a la escasez de datos después de este punto. La disposición de pacientes (con información PK disponible) y las razones para la interrupción después de 5 años de tratamiento fueron tabuladas con respecto al cruce de la otra rama de tratamiento, eventos adversos, efecto terapéutico no satisfactorio, y otras razones (incluyendo procedimiento anormal, no requiere otro estudio del fármaco (BMT), violación del protocolo, retiro consentido del sujeto, pérdida del seguimiento, y muerte).

Análisis Farmacocinético de la Muestra

35 Las muestras de sangre fueron recolectadas antes de la dosificación de Imatinib el Día 2 (i.e. 24 horas después de la primera dosis) y de nuevo el Día 29 (nivel mínimo en el estado estacionario). Las concentraciones en plasma de Imatinib y CGP74588 se determinaron por cromatografía líquida y espectrometría de masas en tándem (LC/MS/MS). El límite de cuantificación fue 5 ng/ml para tanto el Imatinib como el CGP74588; el ensayo fue validado completamente (Bakhtiar R, Lohne J, Ramos L, Khemani L, Hayes M, Tse F; J Chromatog B Anal Technol Biomed Life Sci. 2002;768:325-40.) La exactitud y precisión fueron $104\% \pm 6\%$ en el límite de cuantificación inferior y $99\% \pm 5\%$ a $108\% \pm 5\%$ sobre el rango de concentración total de 4-10,000 ng/ml.

Análisis de los Datos

45 Las concentraciones mínimas en plasma (valor C_{\min}) de Imatinib y su metabolito después de la primera dosis y en el estado estacionario fueron analizadas y el análisis de correlación se llevó a cabo retrospectivamente con respuestas clínicas incluyendo CCR y MMR, así como la disposición del paciente después de 2 y 5 años de tratamiento. La correlación de los niveles mínimos PK con la edad, el género, el peso corporal y el área de la superficie corporal fue evaluada. Los niveles mínimos en plasma de ambos, el Imatinib y CGP74588 en los Días 2 y 29 fueron agrupados en cuatro cuartiles. El cuartil inferior (Q1) incluye los datos en el 25% de los pacientes con los más bajos valores de concentración observados, mientras que los cuartiles Q2 y Q3 se extienden el 25% por debajo y por encima de la concentración media, respectivamente. El cuartil superior (Q4) incluye el 25% de pacientes con los valores de concentración más altos. El centro del 50% de los datos, i.e. excluyendo Q1 y Q4, fueron combinados para todos los análisis y conjuntamente se refieren como cuartiles intermedios (IQ). Estos tres grupos (Q1, IQ y Q4), se utilizaron para la estratificación como apropiados. Las velocidades de respuesta citogénica y molecular fueron estimadas utilizando el método Kaplan-Meier, y los estratos explorativamente comparados por el test de rango-log. La correlación entre los niveles mínimos y las variables demográficas se evaluó por medio del coeficiente de correlación del rango Spearman.

Resultados

Niveles mínimos en plasma y demográficos de imatinib y su metabolito

Los datos farmacocinéticos se obtuvieron de un total de 351 pacientes (221 hombres y 130 mujeres). La media del peso corporal fue 85.9 ± 16.8 (SD) kg para los hombres (mediana, 83.6, y rango, 52.9 a 163.3) y 72.4 ± 18.1 kg para las mujeres (mediana, 68.9, y rango, 40.0 a 133.0). El área de la superficie corporal (BSA) fue 2.0 ± 0.2 m² para los hombres (mediana, 2.0 y rango, 1.53 a 2.8) y 1.8 ± 0.2 m² para las mujeres (mediana, 1.75 y rango, 1.35 a 2.54). La media de la edad de la población fue 50 años (rango, 18 a 70 años). De los 351 pacientes que tuvieron muestras evaluables en el sub-estudio PK, 238 permanecen en el estudio (67.8%), 10 se entrecruzaron (2.8%), 113 (32.2%) dejaron el Imatinib en el estudio debido a un efecto terapéutico no satisfactorio (n=51,14.5%), eventos adversos (n=15, 4.3%), muerte (n=6, 1.7%), trasplante de médula ósea (n=11, 3.1 %), retractación del consentimiento (n=15, 4.3), u otras razones tales como procedimientos anormales, violación del protocolo, pérdida del seguimiento, o problemas administrativos (n=15, 4.3%).

Después de la primera dosis de los primeros 400 mg, las concentraciones mínimas de Imatinib y CGP74588 a las 24-horas fueron 517.7 ± 369.6 ng/mL y 82.7 ± 47.4 ng/mL, respectivamente. El día 29, las concentraciones mínimas de Imatinib y CGP74588 fueron 979.0 ± 529.6 ng/mL y 241.9 ± 105.5 ng/mL, respectivamente; la relación de la concentración del metabolito con el fármaco original fue 0.268 ± 0.085 (n=351). Basándose en los niveles mínimos en los días 2 y 29 sobre el mismo sujeto, la relación de acumulación con el estado estacionario se estimó que era 2.21 ± 1.15 para Imatinib y 3.38 ± 1.54 para CGP74588. La distribución de las concentraciones mínimas de Imatinib en el estado estacionario se muestra en la Figura 4. Hubo 19 pacientes con niveles mínimos del Día 29 >2000 ng/ml incluidos en el 4° cuartil para el análisis.

El nivel mínimo en plasma de Imatinib fue ligeramente mayor en las mujeres que en los hombres (1078 ± 514.5 ng/mL vs 921 ± 530.8 ng/mL, respectivamente, y difieren en un 17.2%), probablemente debido a las diferencias del peso corporal (18.7%) entre géneros. Los niveles mínimos en plasma del metabolito CGP74588 siguieron un patrón similar, mientras que la relación metabolito/fármaco original fue la misma en hombres y mujeres. Hubo una correlación débil entre los niveles mínimos de Imatinib en el estado estacionario y ambos el peso corporal ($r^2 = 0.015$) y BSA ($r^2 = 0.038$) como se muestra en la Figura 5. Asumiendo una relación lineal simple entre el peso corporal y el nivel mínimo, un aumento de 40 kg a 120 kg en peso da lugar a una disminución estimada en el nivel mínimo de aproximadamente 280 ng/ml. Hubo también una correlación débil entre los niveles mínimos (o relación metabolito/fármaco original) y la edad de los pacientes ($r^2 = 0.02$). Una vez más hacer un supuesto simplificador de relación lineal, los niveles mínimos de Imatinib aumentaron en 295 ng/ml como la edad mayor de 20 años a 70 años de edad. Sin embargo, debido a la gran variabilidad en el nivel mínimo en plasma entre individuos, no es probable que estos efectos de la edad, el género, y BW o BSA en exposición mínima a Imatinib, sean clínicamente significantes.

Correlación de la exposición PK con las respuestas clínicas

La Tabla 2.1 enumera los niveles mínimos en el estado estacionario de Imatinib, CGP74588, y su relación agrupada en cuartiles. Las exposiciones mínimas en Q2 y Q3 se combinaron como IQ para representar el 50% central de la población. La Figura 6 (panel superior) muestra que las velocidades de respuesta CCR a los 5 años, fueron significativamente diferentes entre los diferentes cuartiles del nivel mínimo de Imatinib (p=0.0125). La diferencia se atribuyó principalmente a una velocidad de CCR inferior en el grupo Q1 (p=0.005, Q1 vs otros). Una tendencia similar se observó para las velocidades de MMR a los 2 años con respecto a los niveles mínimos plasmáticos de exposición en estado estacionario. Los pacientes en Q1 tuvieron una velocidad de MMR inferior que en otros grupos combinados, aunque no se logró una diferencia estadísticamente diferente entre los tres grupos cuartil individuales (p = 0.08). La exposición mínima al imatinib en pacientes que eventualmente lograron CCR fue significativamente superior a aquellos que no lograron CCR, 1009 ± 544 ng/mL vs 812 ± 409 ng/mL, respectivamente (p=0.01 Figura 7). No se observó una diferencia significativa en la exposición PK entre aquellos pacientes con respuesta MMR y pacientes sin respuesta MMR. El análisis estadístico de velocidades de MMR se llevó a cabo hasta los 24 meses debido a los datos limitados más tarde.

Parece haber una tendencia en la supervivencia libre de evento (EFS) con respecto a los niveles mínimos de Imatinib, una EFS relativamente más pobre en el grupo Q1 que en los otros cuartiles. Sin embargo, no se lograron diferencias estadísticamente significantes con el conjunto de datos disponibles (Figura 8). Se observó una tendencia similar de correlación entre la disposición de pacientes (o discontinuación) y los niveles mínimos PK (Tabla 2.3). Después de 2 años de tratamiento, el número de pacientes en curso fue bajo en el grupo Q1, 75.9%, en comparación con 84.3% y 89.5% en los grupos IQ y Q4. Después de 5 años de tratamiento, el número de pacientes en curso fue 58.6%, 72.5%, y 76.7%, para Q1, IQ, y Q4, respectivamente.

La principal razón para la interrupción parece estar relacionada con el efecto terapéutico no satisfactorio, 10.3%, 6.2%, y 4.7% en Q1, IQ, y Q4, respectivamente, después de 2 años del tratamiento, y 18.4%, 14.6%, y 8.1%, respectivamente después de 5 años de tratamiento. La velocidad de eventos adversos- o de abandono relacionado con la muerte fue similar entre los diferentes grupos de cuartiles después de tanto 2 como 4 años de tratamiento. No

hubo pacientes en el grupo Q4 entrecruzados con otras ramas de tratamiento (rama del Interferon) en comparación con el 4.6% y 3.4% en los grupos Q1 e IQ, respectivamente. El cruce se produjo sobre todo en el primer año o dos años después del inicio del tratamiento.

- 5 La respuesta clínica (CCR, MMR o supervivencia) o disposición del paciente también fue correlacionada con los niveles mínimos del metabolito CGP74588, ya que los niveles del fármaco original y del metabolito se correlacionaron altamente (0.76, coeficiente de correlación Spearman). El nivel mínimo de plasma después de la primera dosis también mostró una correlación con respuestas CCR y MMR, pero parece ser menos predictivo que el nivel mínimo en el estado estacionario.

10 **Tabla 2.1 Niveles mínimos en el estado estacionario (Media (\pm SD) [rango]) de Imatinib y CGP74588 por cuartiles**

Datos del Día 29	Completo N=351	Cuartil 1 N=87	Cuartiles 2 y 3 N=178	Cuartil 4 N=86
Imatinib (ng/mL)	979 (\pm 529.6) [153, 3910]	490 (\pm 119.7) [153, 644]	889 (\pm 148.2) [647, 1170]	1661 (\pm 602.0) [1180, 3910]
CGP74588 (ng/mL)	242 (\pm 105.5) [50.2, 841]	153 (\pm 48.5) [50.2, 322]	236 (\pm 65.8) [105, 455]	343 (\pm 126.1) [160, 841]
CGP74588/Imatinib	0.27(\pm 0.085) [0.11, 0.84]	0.32 (\pm 0.106) [0.15, 0.84]	0.27 (\pm 0.068) [0.11, 0.51]	0.21 (\pm 0.052) [0.13, 0.36]

Tabla 2.2 Velocidades de CCR y MMR (%) en los diferentes cuartiles del nivel mínimo de Imatinib en el estado estacionario

Resultados	Cuartil 1 (n=87)	Cuartiles 2 y 3 (n=178)	Cuartil 4 (n=86)
CCR (%[95% CI])			
1 año	59 [48, 70]*	71 [64, 78]	73 [63, 83]
2 años	73 [63, 83]	80 [73, 86]	84 [75, 92]
4 años	81 [71, 91]	87 [81, 93]	89 [82, 96]
MMR (%) en pacientes con CCR			
1 año	43 [28, 59]	56 [47, 66]	55 [41, 68]
2 años	63 [49, 78]	78 [69, 86]	86 [76, 96]
4 años	65 [50, 80]	83 [75, 91]	90 [81, 100]
Tiempo para CCR (Mes [95% CI])	8.3 [2.7, 56.9]	5.7 [2.7, 50.4]	5.6 [2.8, 55.3]
Tiempo para MMR en pacientes con CCR (meses)	16.7 [2.8, 59.0]	11.5 [2.7, 59.0]	12.2 [2.8, 52.4]

15 **Tabla 2.3 Disposición de los pacientes después de 2 y 5 años de tratamiento agrupados basándose en el nivel mínimo de Imatinib en el estado estacionario**

Resultados	Cuartil 1 (n=87) n (%)	Cuartiles 2 y 3 (n=178) n (%)	Cuartil 4 (n=86) n (%)
Disposición después de 2 años			
Número de pacientes en curso	66 (75.9)	150 (84.3)	77 (89.5)
Cruzado con otra rama de tratamiento	4 (4.6)	6 (3.4)	0 (0)
Tratamiento interrumpido	9 (10.3)	11 (6.2)	4 (4.7)
1. Efecto insatisfactorio			
2. Evento(s) adverso(s)	3 (3.4)	5 (2.8)	2 (2.3)
3. Muerte	0	3 (1.7)	1 (1.2)
4. Otros*	9 (10.3)	9 (5.1)	2(2.3)
Disposición después de 5 años			
Número de pacientes en curso	51 (58.6)	129 (72.5)	66 (76.7)
Cruzado con otra rama de tratamiento	4 (4.6)	6 (3.4)	0 (0)
Tratamiento interrumpido			
1. Efecto insatisfactorio	16 (18.4)	26 (14.6)	7 (8.1)
2. Evento(s) adverso(s)	4 (4.6)	5 (2.8)	6 (7.0)
3. Muerte	1 (1.1)	4 (2.2)	1 (1.2)
4. Otros*	15 (17.2)	14 (7.9)	6 (7.0)
*Otros incluyen: procedimiento anormal, no requiere más estudio del fármaco (BMT), violación del protocolo, retiro consentido del sujeto, pérdida del seguimiento, problemas administrativos.			

REIVINDICACIONES

1. Uso de Imatinib o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la fabricación de un medicamento, para el tratamiento de una leucemia Ph+, en donde

5 (a) una cantidad diaria fija, predeterminada entre 200 y 800 mg de la sal mono-mesilato de Imatinib se debe administrar por vía oral a un paciente humano que sufre de una leucemia Ph+,

(b) al menos una muestra de sangre de dicho paciente, que se recolecta en los primeros 3 meses de tratamiento,

(c) el nivel mínimo en plasma (Cmin) de Imatinib se debe determinar, y

10 (d) la dosis de Imatinib o una sal farmacéuticamente aceptable de este, se debe ajustar de una manera que una Cmin entre 1000 y 3000 ng/mL de Imatinib se logra, cuando el paciente no alcanza una Cmin entre 1000 y 3000 ng/mL de Imatinib, después de la administración de la cantidad fija, predeterminada de la sal mono-mesilato de Imatinib.

2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la leucemia Ph+, es una leucemia linfoblástica aguda positiva para el cromosoma de Filadelfia (Ph+ ALL) o una leucemia mieloide crónica (CML).

15 3. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde en la etapa (a), se administra una dosis diaria de 400 mg de la sal mono-mesilato de Imatinib.

Fig. 1

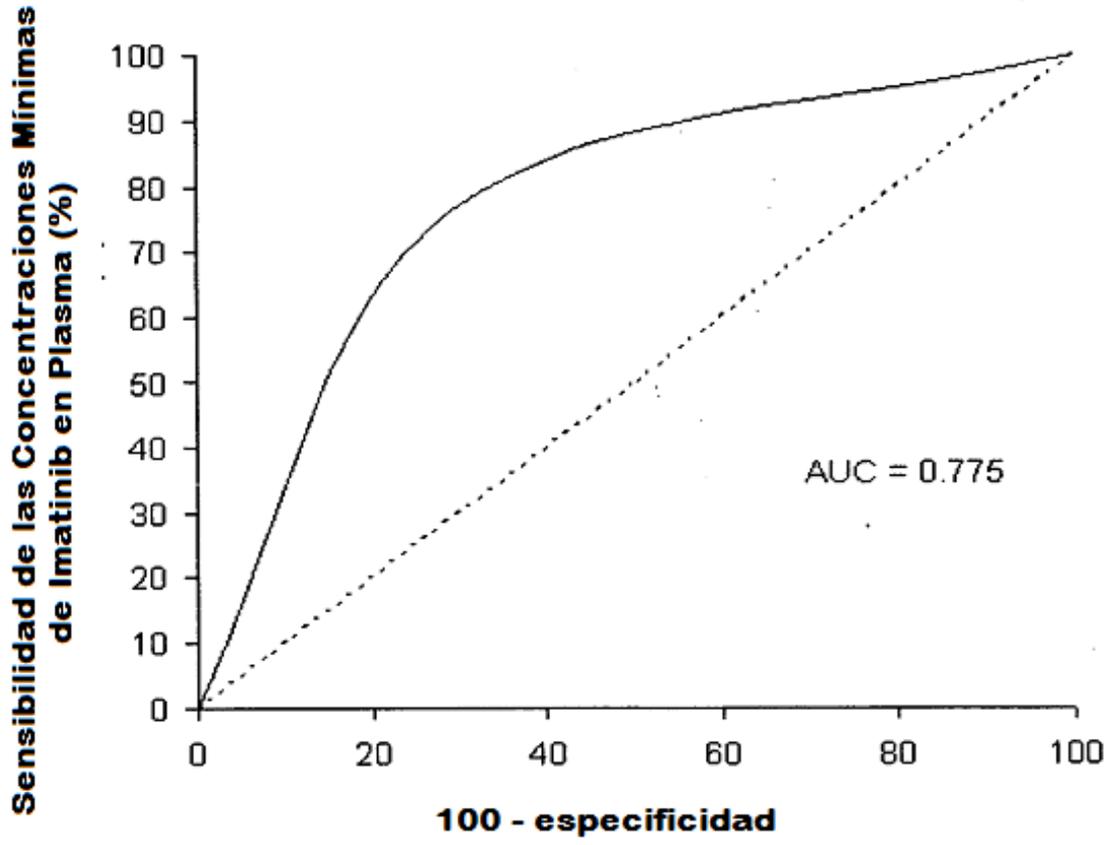


Fig. 2

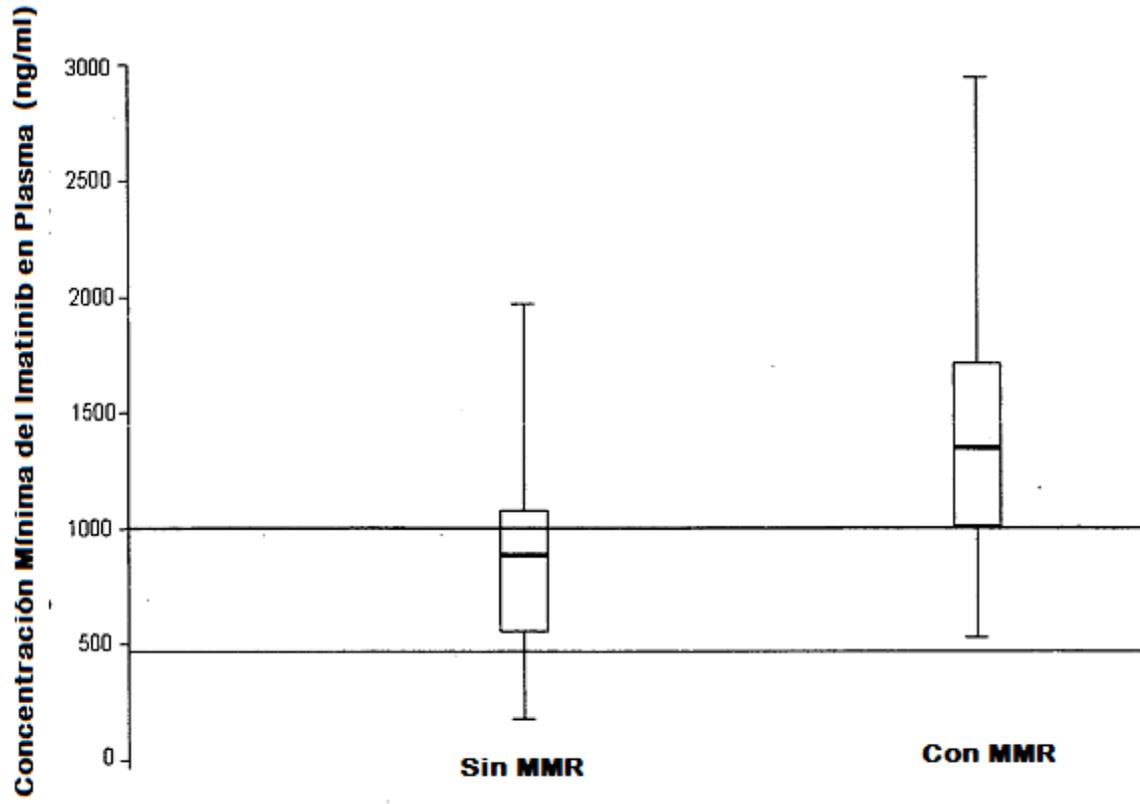


Fig. 3

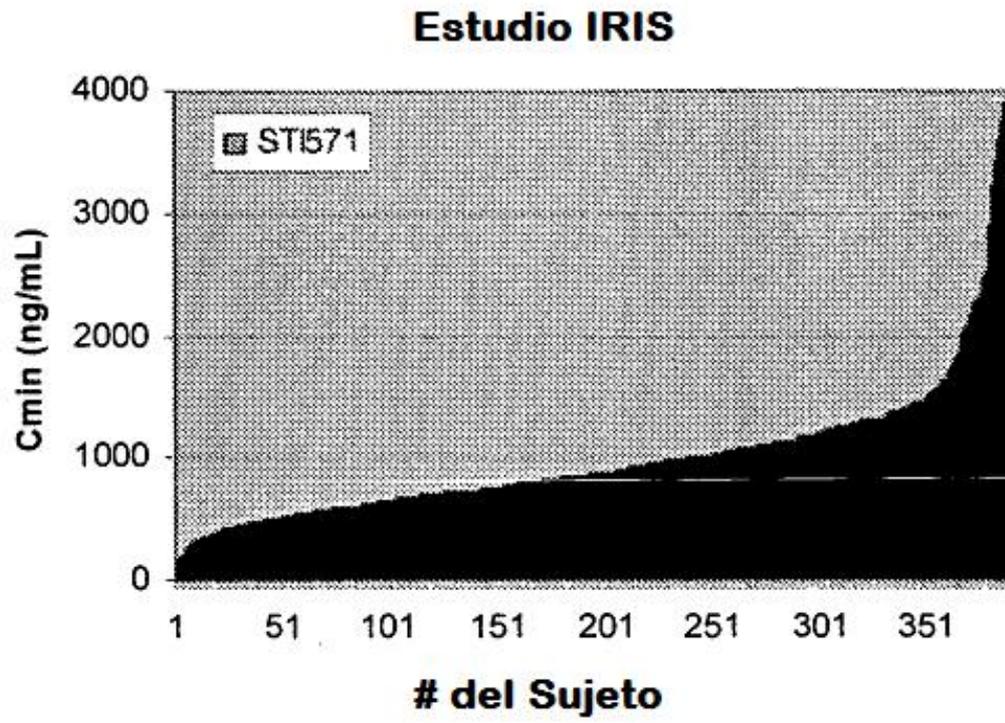


Fig. 4

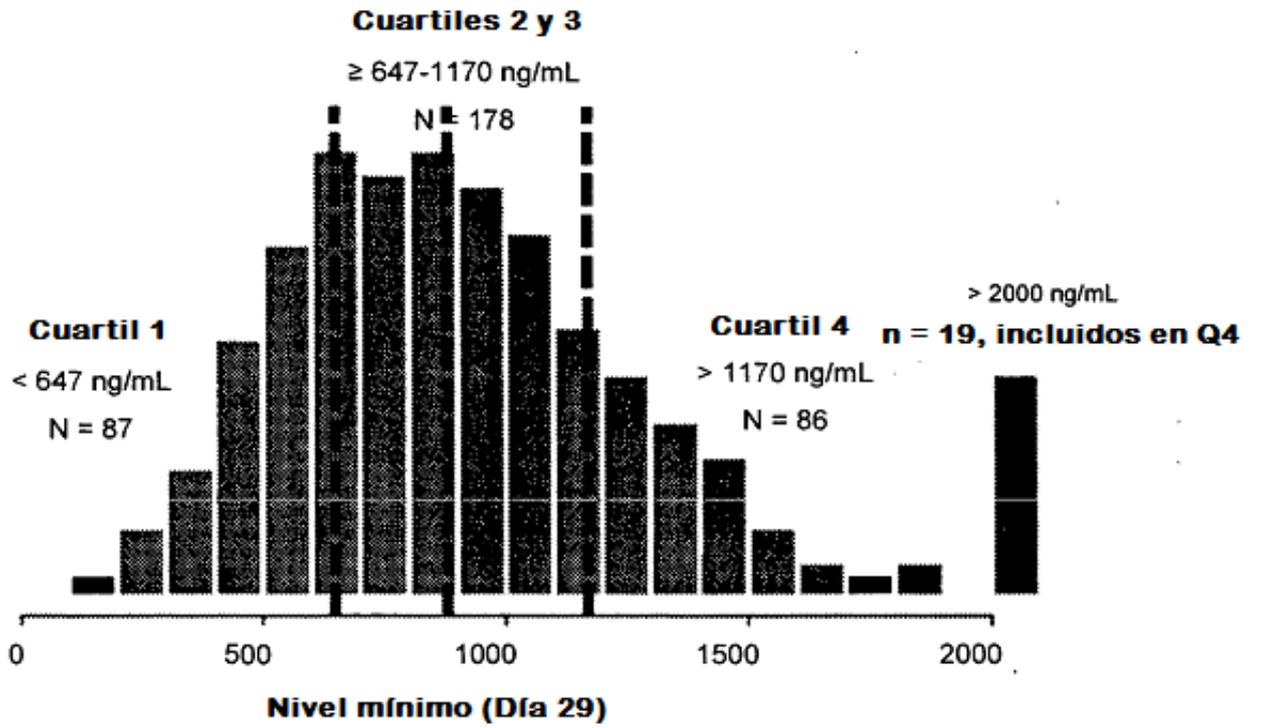
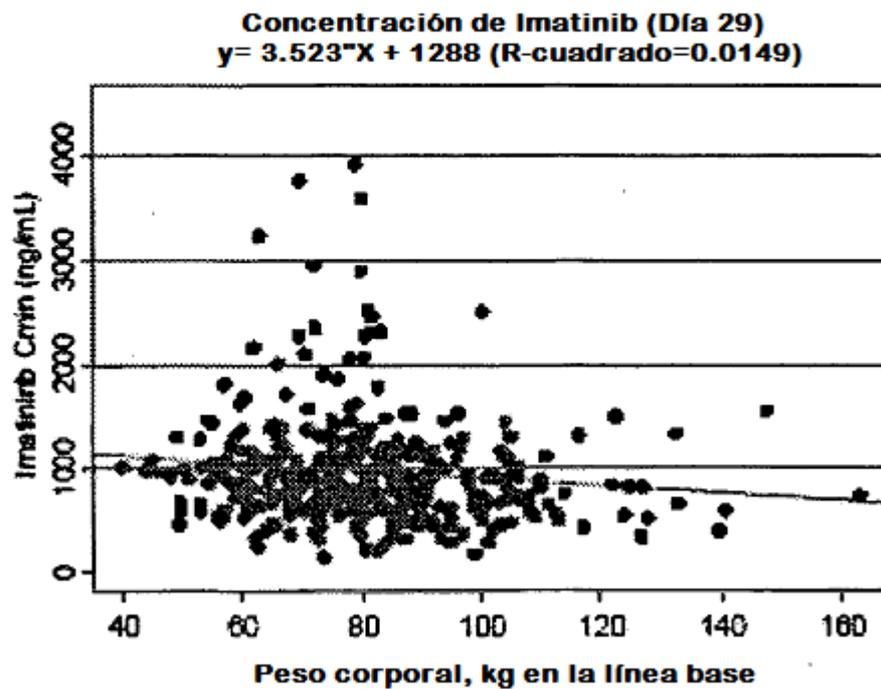


Fig.5



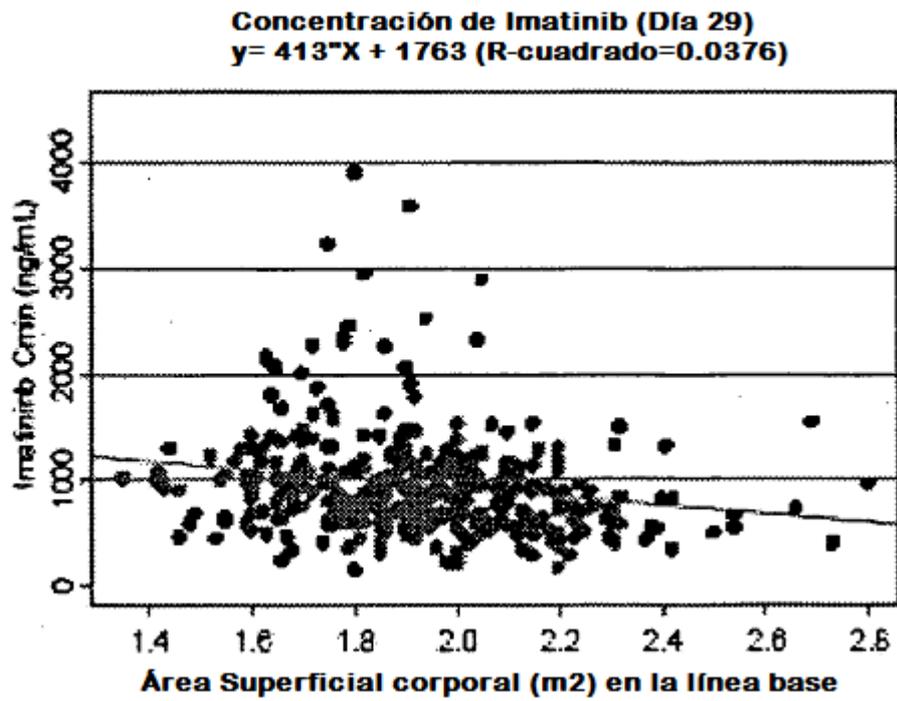
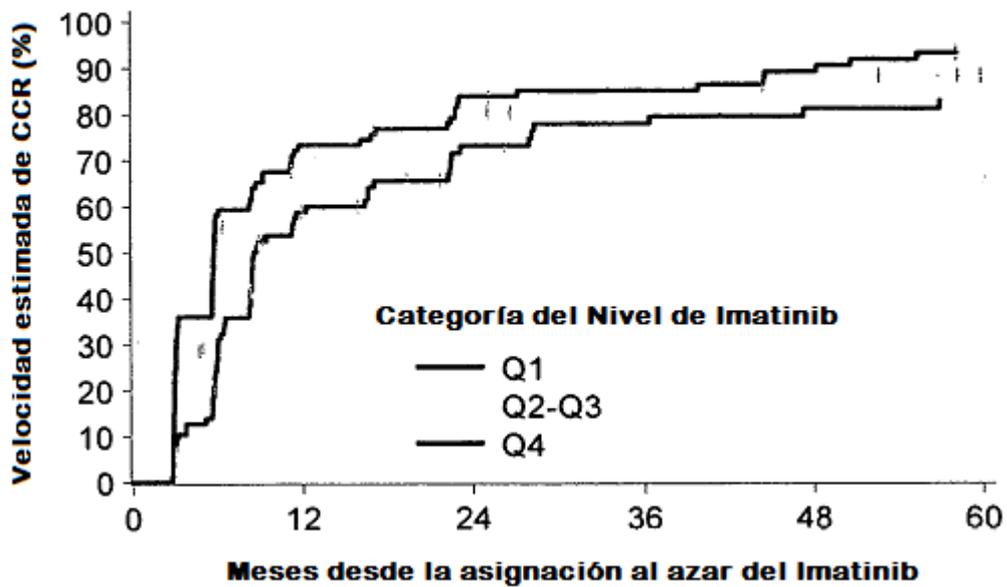


Fig. 6



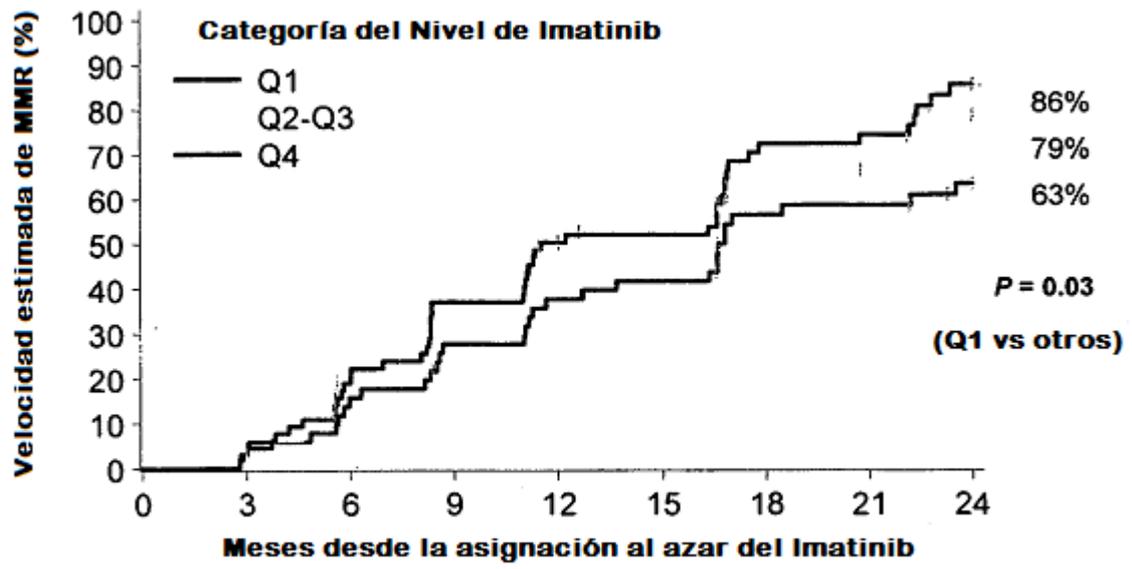


Fig. 7

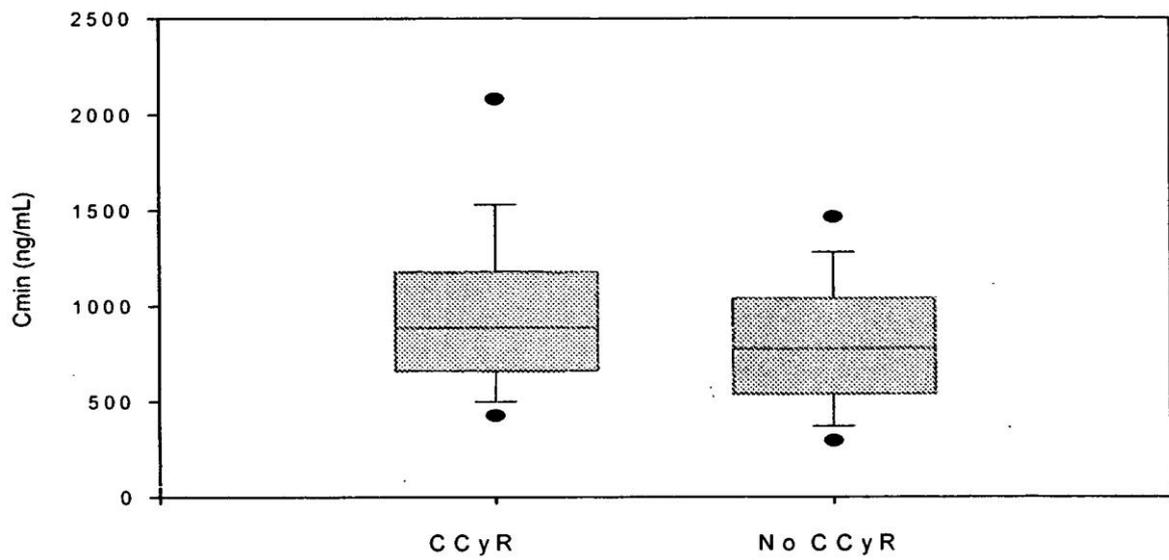
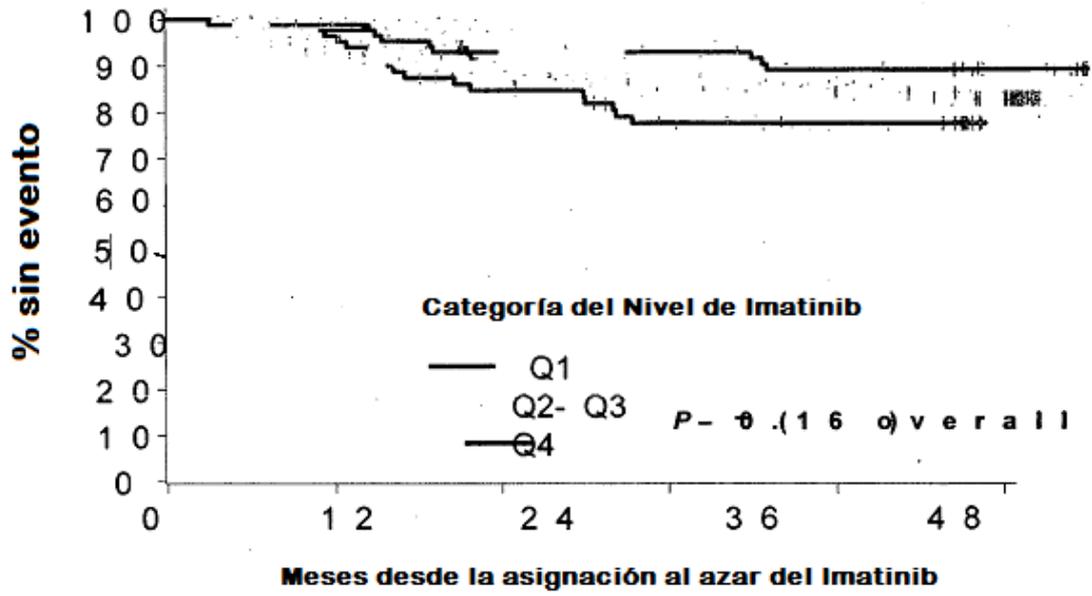


Fig. 8



REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCION

Esta lista de referencias citada por el aspirante es solamente para conveniencia del lector. No forma parte del documento de la patente Europea. Aún cuando se ha tenido gran cuidado en recopilar las referencias, los errores u omisiones no se pueden excluir y la EPO desconoce toda responsabilidad a este respecto.

- 5 **Documentos de patentes citadas en la descripción**
- US 6894051 B [0021] [0022]
 - US 5521184 A [0022]
 - US 20050267125 A [0022]
 - WO 2006121941 A [0022]
- 10 **Literatura no-patente citada en la descripción**
- **S.G. O'Brien ; F. Guilhot ; R.A. Larson et al.** *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 348, 994-1004 [0003]
 - **Druker BJ ; Guilhot F ; O'Brien SG et al.** on behalf of the IRIS Investigators. Five-Year Follow-up of Imatinib Therapy for Newly Diagnosed Myeloid Leukemia in Chronic-Phase Shows Sustained Responses and High Overall Survival. *New Eng J Med*, 2006, vol. 355, 2408-17 [0003]
- 15
- **Peng B.; Hayes M. ; Resta, D. et al.** *J. Clin. Oncol.*, 2004, vol. 22, 935-942 [0004]
 - **Mahon et al.** *Blood*, 16 November 2005, vol. 106, 565A [0004]
 - **Colombat M ; Fort MP ; Chollet C et al.** Molecular remission in chronic myeloid leukemia patients with sustained complete cytogenetic remission after imatinib mesylate treatment. *Haematologica*, 2006, vol. 91, 162-8 [0010]
 - **B.J. Druker et al.** *Nat. Med.*, 1996, vol. 2, 561-566 [0013]
- 20
- **Wilkinson GR.** *J Pharmacokinet Biopharm.*, 1996, vol. 24, 475-90 [0016]
 - **Peng BM Hayes M ; Resta D et al.** *J Clin Oncol.*, 2004, vol. 22, 935-42 [0016]
 - **Bolton AE ; Peng B ; Hubert M et al.** *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2004, vol. 53, 102-106 [0016]
 - **Dutreix C; Peng B ; Mehring G et al.** *Cancer Chemother Pharmacol.*, 2004, vol. 54, 290-294 [0016]
 - **Smith PF; Bullock JM ; Booker BM et al.** *Pharmacother.*, 2004, vol. 24 (11), 1508-1514 [0016]
- 25
- **Frye RF; Fitzgerald SM ; Lagattuta TF ; Hruska MW ; Egorin MJ.** *Clin Pharmacol Thr.*, 2004, vol. 76, 323-329 [0016]
 - **R. Bakhtiar R et al.** *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.*, 05 March 2002, vol. 768 (2), 325-40 [0023]
 - **Colombat M ; Fort MP ; Chollet C et al.** *Haematologica*, 2006, vol. 91, 162-8 [0026]
 - **Hughes TP; Deininger M ; Hochhaus A et al.** *Blood*, 2006, vol. 108, 28-37 [0026]
- 30
- **Hughes TP; Kaeda J ; Branford S et al.** International Randomised Study of Interferon versus STI571 (IRIS) Study Group. *N Engl J Med*, 2003, vol. 349, 1423-32 [0026]
 - **Titier K ; Picard S ; Ducint D et al.** *Ther Drug Monit*, 2005, vol. 27, 634-40 [0027]
 - *Ther Drug Monit*, 2005, vol. 27, 810 [0027]
 - **Peng B ; Hayes M ; Resta D et al.** *J Clin Oncol*, 2004, vol. 22, 935-42 [0033]
- 35
- **O'Brien SG ; Guilhot F ; Larson RA et al.** *N Eng J Med.*, 2003, vol. 348, 994-1004 [0043]
 - **Bakhtiar R ; Lohne J ; Ramos L ; Khemani L ; Hayes M ; Tse F.** *J Chromatog B Anal Technol Biomed Life Sci.*, 2002, vol. 768, 325-40 [0046]