



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 362 637**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/4745** (2006.01)  
**A61K 38/16** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08827826 .2**  
96 Fecha de presentación : **02.07.2008**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2173349**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.04.2010**

54 Título: **Combinaciones antitumorales que contienen un agente inhibidor de VEGF y de irinotecan.**

30 Prioridad: **05.07.2007 FR 07 04868**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**08.07.2011**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**08.07.2011**

73 Titular/es: **AVENTIS PHARMA S.A.**  
**20, avenue Raymond Aron**  
**92160 Antony, FR**

72 Inventor/es: **Bissery, Marie-Christine;**  
**Chiron-Blondel, Marielle;**  
**Lejeune, Pascale y**  
**Vrignaud, Patricia**

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 362 637 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

Combinaciones antitumorales que contienen un AGENTE inhibidor de VEGF y de irinotecán.

- 5 La presente invención se refiere a las combinaciones de un inhibidor de VEGF, VEGF Trap, y de un agente quimiotóxico de la clase de los inhibidores de topoisomerasa útil en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas, irinotecán.
- 10 Los inhibidores de VEGF que son inhibidores del factor de crecimiento vascular endotelial son en la mayoría de los casos productos biológicos elegidos entre los receptores solubles, antisentido, aptámeros de ARN y anticuerpos. Los inhibidores de topoisomerasa útiles en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas conocidos se eligen entre las camptotecinas, entre ellos el CPT 11, el topotecán y el piridobenzindol. La presente combinación se dirige en particular al tratamiento del cáncer de colon y de estómago.
- 15 La descripción y la preparación del inhibidor del VEGF utilizado en la invención es una proteína quimérica VEGF-Trap y se describe en la solicitud de patente WO00/75319. Hay varias formas de realización de la proteína quimérica.
- 20 La forma de realización correspondiente al VEGF-Trap es la descrita en la figura 24 (secuencia). El VEGF Trap utilizado en la invención es una proteína de fusión que comprende la secuencia señal del VEGFR1 fusionada con el dominio Ig D2 del receptor VEGFR1, él mismo fusionado con el dominio Ig D3 del receptor VEGFR2 fusionado a su vez con el dominio Fc de IgG1 también llamada VEGFR1 R2-FcAC1 o Flt1D2.Flk1D3.FcΔC1.
- 25 Generalmente, las dosis de VEGF Trap utilizadas en el ser humano, que dependen de los factores propios del sujeto que se va a tratar, están comprendidas entre 1 y 10 miligramos por kilo cuando la administración se hace por vía subcutánea o por vía intravenosa.
- 30 Entre los inhibidores de topoisomerasa se utiliza el irinotecán, también conocido con la denominación común de CPT-11.
- El irinotecán se utiliza generalmente por vía intravenosa a una dosis comprendida entre 100 mg/m<sup>2</sup> y 500 mg/m<sup>2</sup> según el esquema de administración. Se utiliza por ejemplo una dosis de 150 mg/m<sup>2</sup> para un esquema semanal y una dosis comprendida entre 200 y 400 mg/m<sup>2</sup> para un esquema para cada tres semanas.
- 35 Se ha descrito en un artículo de H Hurwitz, L Fehrenbacher, W Novotny, T Cartwright, J Hainsworth, W Heim, J Berlin, A Baron, S Griffing, E Holmgren, N Ferrera, G Fyfe, B Rogers, R Ross, F Kabbinavar aparecido en « The New England Journal of Medicine » un ensayo clínico que demuestra una mayor tasa de supervivencia con la utilización de la combinación de bevacizumab con irinotecán, 5FU y leucovorina con relación a la misma combinación que no contiene bevacizumab. Nada demuestra en este ensayo clínico que la mejora de la tasa de supervivencia proviene de la combinación de irinotecán con bevacizumab, puede provenir también de la combinación de 5FU o leucovorina con bevacizumab o puede provenir de la cuádruple combinación. Ahora bien, como se conoce que cada uno de los agentes anticancerígenos aporta junto a su efecto terapéutico efectos secundarios tóxicos parece oportuno limitar al máximo su presencia sobre todo cuando puede obtenerse el mismo efecto en ausencia de al menos uno de ellos. Por otra parte, este artículo no demuestra ningún efecto sinérgico en el sentido de Corbett, es decir, un efecto que no puede obtenerse con cada uno de los elementos de la combinación utilizado solo a su dosis máxima tolerada.
- 40
- 45 El VEGF Trap es un receptor soluble creado por la fusión del segundo dominio Ig del VEGFR-1 con el tercer dominio Ig del VEGFR-2, a continuación fusionado con la parte Fc de una IgG1 humana. Como el receptor VEGFR-1, el aflibercept (VEGF Trap) tiene una elevada afinidad por el VEGF-A con una Kd de 0,5 pM. La unión de alta afinidad del VEGF Trap con el VEGF-A da como resultado la formación de un complejo que impide que el VEGF se fije y active sus receptores en la superficie de las células.
- 50
- En comparación con Avastin (o bevacizumab), el VEGF Trap es un receptor soluble, mientras que Avastin es un anticuerpo dirigido contra el VEGF-A. El VEGF Trap tiene una afinidad por el VEGF-A muy superior a la del Avastin y un perfil de selectividad diferente porque el VEGF Trap se une igualmente a los otros ligandos de los receptores VEGFR1-2, es decir, al PlGF (factor de crecimiento placentario) y al VEGF-B. Por otra parte, el VEGF Trap tiene un peso molecular sensiblemente inferior al de Avastin (115 kDa para el aflibercept frente a 160 kDa para el Avastin) más favorable a la penetración en los tumores sólidos.
- 55
- 60 Se ha encontrado ahora, y esto es lo que constituye el objeto de la presente invención, que la eficacia del VEGF Trap puede mejorarse considerablemente cuando se administra en asociación con una sustancia terapéuticamente útil en los tratamientos anticancerígenos que tiene un mecanismo de acción diferente del de los inhibidores del VEGF, irinotecán.

Por otra parte, como la actividad de los productos depende de las dosis utilizadas, es posible utilizar dosis más elevadas y aumentar la actividad disminuyendo los fenómenos de toxicidad o retardando su aparición asociando a los inhibidores de VEGF otras sustancias terapéuticamente activas de los factores de crecimiento de tipo hematopoyético tales como G-CSF o GM-CSF o algunas interleuquinas.  
la invención se refiere a las asociaciones de VEGF Trap con irinotecán.

La eficacia mejorada de una combinación según la invención puede ponerse de manifiesto por la determinación del sinergismo terapéutico.

Una combinación manifiesta un sinergismo terapéutico si es terapéuticamente superior a uno u otro de los constituyentes utilizado a su dosis óptima.

Para poner de manifiesto la eficacia de una combinación, puede ser necesario comparar la dosis máxima tolerada de la combinación con la dosis máxima tolerada de cada uno de los constituyentes aislados en el estudio considerado. Esta eficacia puede cuantificarse, por ejemplo por el  $\log_{10}$  de las células muertas, que se determina según la siguiente fórmula :

$$\log_{10} \text{ de las células muertas} = T - C (\text{días}) / 3,32 \times T_d$$

en la que T - C representa el período de crecimiento de las células, que es el tiempo medio, en días, para que los tumores del grupo tratado (T) y los tumores del grupo testigo (C) hayan alcanzado un valor predeterminado (1 g por ejemplo) y  $T_d$  representa el tiempo, en días, necesario para que se duplique el volumen del tumor en los animales testigo [T.H. CORBETT et al., Cancer, 40, 2660.2680 (1977) ; F.M. SCHABEL et al., Cancer Drug Development, Parte B, Methods in Cancer Research, 17, 3-51, Nueva- York, Academic Press Inc. (1979)]. Un producto se considera activo si el  $\log_{10}$  de las células muertas es superior o igual a 0,7. Un producto se considera muy activo si el  $\log_{10}$  de las células muertas es superior a 2,8.

La combinación, utilizada a su propia dosis máxima tolerada, en la que cada uno de los constituyentes estará presente a una dosis generalmente inferior o igual a su dosis máxima tolerada, manifestará una sinergia terapéutica cuando el  $\log_{10}$  de las células muertas sea superior al valor del  $\log_{10}$  de las células muertas del mejor constituyente cuando se administra solo, y particularmente de una superioridad de al menos un log de muerte celular.

La eficacia de las combinaciones sobre los tumores sólidos puede determinarse experimentalmente de la siguiente manera:

Los animales sometidos al experimento, generalmente ratones, se injertan bilateralmente por vía subcutánea con 30 a 60 mg de un fragmento de tumor humano HCT116 (BRATTAIN, M.G., FINE, W.D., KHALED, F.M., THOMPSON, J. y BRATTAIN, D.E., Heterogeneity of malignant cells from a human colonic carcinoma. Cancer Res., 1981, 41, 1751-1756) el día 0. Los animales que portan los tumores se distribuyen aleatoriamente antes de ser sometidos a los diversos tratamientos y controles. En el caso de tratamiento de tumores de la presente invención, se deja que los tumores se desarrollen hasta un tamaño comprendido entre 48 y 294 mg, lo que permite tener un tumor mediano por grupo comprendido entre 129 y 162 mg. Los animales que han sido sometidos al tratamiento con VEGF Trap solo presentaban un peso comprendido entre 17,1 y 22,7 g, los animales que han sido sometidos al tratamiento con irinotecán solo tenían un peso comprendido entre 17,5 y 22,3 g y los que han recibido la combinación tenían un peso comprendido entre 17,5 y 23,6 g. Los animales portadores de tumores han sido igualmente sometidos a los mismos tratamientos con el excipiente solo con el fin de poder disociar el efecto tóxico del excipiente del efecto propio de la quimioterapia sobre el tumor. La quimioterapia ha comenzado el día 12 después del injerto tumoral. Las inyecciones de VEGF Trap se han realizado por vía subcutánea simultáneamente a las inyecciones de irinotecán que se han realizado por vía intravenosa según una doble inyección diaria. Estas inyecciones se han realizado los días 12, 15 y 18 después de la implantación del tumor. Los diferentes grupos de animales se pesan tres o cuatro veces por semana hasta que se alcance la pérdida máxima de peso, a continuación los grupos se pesan al menos una vez por semana hasta el fin del ensayo.

Los tumores se miden dos o tres veces por semana hasta que el tumor alcanza aproximadamente 2 g o hasta la muerte del animal si éste sobrevive antes de que el tumor alcance 2 g. Se hace la autopsia de los animales durante su sacrificio.

La actividad antitumoral se determina en función de los diferentes parámetros registrados.

A título de ejemplos, se proporcionan, en las tablas siguientes, los resultados obtenidos con las combinaciones de VEGF Trap y de irinotecán utilizados a su dosis óptima.

La presente invención se refiere igualmente a los kits de composiciones farmacéuticas que contienen los productos utilizados en las combinaciones según la invención.

5 Los productos que constituyen la combinación pueden administrarse simultáneamente, separadamente o de una manera escalonada en el tiempo de forma que se obtenga la máxima eficacia de la combinación; cada administración puede tener una duración variable que va de una administración total rápida a una perfusión continua.

10 De ello resulta que, en el sentido de la presente invención, las combinaciones no se limitan únicamente a las que se obtienen por asociación física de los constituyentes, sino también a las que permiten una administración separada que puede ser simultánea o escalonada en el tiempo.

Las composiciones según la invención son preferentemente las composiciones administrables por vía parenteral.

15 Las composiciones para administración parenteral son generalmente disoluciones o suspensiones estériles farmacéuticamente aceptables que pueden prepararse opcionalmente extemporáneamente en el momento de utilizarse. Para la preparación de disoluciones o suspensiones no acuosas pueden utilizarse aceites vegetales naturales tales como aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de parafina o ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. Las disoluciones estériles acuosas pueden estar constituidas por una disolución del producto en agua. Las disoluciones acuosas convienen para la administración intravenosa en la medida en que el pH se ajusta convenientemente y se obtiene la isotonicidad adecuada, por ejemplo con una cantidad suficiente de cloruro de sodio o de glucosa. La esterilización puede realizarse por calentamiento o por cualquier otro medio que no altere la composición. Las combinaciones pueden también presentarse en forma de liposomas o en forma de asociación con soportes tales como las ciclodextrinas o polietilenglicoles.

25 En las combinaciones según la invención en las que la aplicación de los constituyentes puede ser simultánea, separada o escalonada en el tiempo, es particularmente ventajoso que la cantidad de derivado de VEGF Trap represente de 10% a 80% en peso de la combinación, pudiendo variar este contenido en función de la naturaleza de la sustancia asociada, de la eficacia buscada y de la naturaleza del cáncer que se ha de tratar.

30 Las combinaciones según la invención son particularmente útiles en el tratamiento de cánceres de colon y/o de estómago. En particular, pueden presentar la ventaja de poder introducir los constituyentes a dosis notablemente más bajas que las correspondientes a cuando se utilizan solos.

35 El ejemplo siguiente ilustra una combinación según la invención.

#### EJEMPLO

40 Se preparan según la técnica habitual, para la administración subcutánea, ampollas de 1 cm<sup>3</sup> que contienen 25 mg de VEGF Trap que se diluyen en un tampón fosfato 5mM, citrato de sodio 5 mM, cloruro de sodio 100 mM, polisorbato 20 y sacarosa al 20%. El volumen de administración por ratón es 0,1 ml. El VEGF Trap se administra una vez al día, los días 12, 15 y 18 después de la implantación del tumor.

Se preparan según la técnica habitual, para la administración intravenosa 0,3 ml por ratón a partir de una disolución comercial de 20 mg/ml de irinotecán a diluir con dextrosa al 5 % en agua.

45 Estas disoluciones se administran simultáneamente, después de adecuada dilución,

El tratamiento con irinotecán se repite dos veces al día con 4 horas de intervalo, los días 12, 15 y 18 después de la implantación del tumor

50 Los resultados del ensayo se reúnen en la tabla anexa.

Tiempo para que el tumor se duplique = 3,2 días.

55 Abreviaturas utilizadas: (T-C) período de crecimiento del tumor, lck = log de células muertas.

Se ha observado una toxicidad para el irinotecán solo a las dosis de 52,4, 32,5 y 20,2 mg/kg/inyección debido a una muerte a la dosificación de 52,4 y una pérdida de peso superior al 20% para las dos dosificaciones inferiores. Así, la dosis máxima tolerada para el irinotecán ha sido de 12,5 mg/kg/iny (dosis total inyectada de 75,0 mg/kg). La dosis de 12,5 mg/kg/inyección se ha encontrado que es activa, con un lck de 1,8.

60

Para el VEGF Trap, el producto se ha tolerado bien a todas las dosificaciones ensayadas y se ha encontrado que es activo con un lck de 1,7 a 40 mg/kg/administración y 25 mg/kg/administración. La dosis inferior de 10 mg/kg/administración es igualmente activa, con un lck de 1,3. La dosis de 2,5mg/kg/administración es inactiva.

- 5 Para la combinación de irinotecán a 32,5 mg/kg/inj, sea cual sea la dosis de VEGF Trap, se ha encontrado que la combinación es tóxica con una pérdida de peso de 18% próxima a la toxicidad . La dosis inferior de 20,2 mg/kg/inj de irinotecán con 40 mg/kg de VEGF Trap se ha considerado la dosis máxima tolerada. Esta dosis ha presentado un lck de 3,0 juzgado muy activo. Se ha encontrado el mismo nivel de actividad con las dosis inferiores de VEGF Trap como 25, 10, 2,5 mg/kg/administración (lck de 2,9, 3,0 y 2,9 respectivamente).
- 10 El irinotecán a 12,5 mg/kg/inj asociado al VEGF Trap a 40 mg/kg/administración es activo con un lck de 2,7. Esta actividad anti-tumoral se mantiene con 25 y 10 mg/kg de VEGF Trap (lck de 2,9 y 2,7, respectivamente). La combinación con 2,5 mg/kg/administración de VEGF Trap tiene una actividad de 2,0 lck.
- 15 En conclusión, la actividad de la combinación de VEGF Trap con irinotecán muestra un efecto sinérgico con un log de muerte celular de 3,0, a la dosis máxima tolerada de la combinación, que corresponde a más de 1 log de muerte celular comparado con la actividad de cada uno de los compuestos utilizado solo que presenta un log de muerte celular de 1,8 y 1,7 (para el irinotecán a 12,5 mg/kg/inyección y VEGF Trap a 40 mg/kg/administración, respectivamente). Se mantiene una actividad antitumoral a varios niveles de dosis por debajo de la dosis máxima tolerada de la combinación.

	Agente (solo)	Vía de adm	Dosificación en mg/kg por inyección	Esquema en días	dosis total en mg/kg	Muerte a causa del producto con día de la muerte	Pérdida de peso del ratón (día del punto bajo)	Tiempo medio para que el tumor alcance 750 mg en días	T-C en días	log de muerte celular	Supervivientes sin tumor el día 144	Comentarios
6	CPT-11	i.v. 0,3 ml	52,4	12, 15, 18	314,4	1/8 (23)	-27,0 (21)	-	-	-	-	Tóxico
7			32,5	(2x/d)	195,0	0/7	-23,1 (19)	-	-	-	-	Tóxico
8			20,2	(separada 4h)	121,2	0/8	-21,9 (19)	-	-	-	-	Tóxico
9			12,5		75,0	0/8	-15,9 (21)	37,6	19,1	1,8	0/8	HNTD activo
2	VEGF Trap	s.c. 0,1ml	40,0	12,15,18	120,0	0/8	-3,1 (13)	36,8	18,3	1,7	0/8	HDT activo
3			25,0		75,0	0/8	-2,2 (13)	36,8	18,3	1,7	0/8	activo
4			10,0		30,0	0/8	-5,0 (19)	32,0	18,3	1,3	1/8	activo
5			2,5		7,5		-8,3 (19)	20,2	1,7	0,2	0/8	inactivo

ES 2 362 637 T3

10	CPT-11 VEGF Trap	i.v 0,3ml s.c. 0,1ml	32,5 40,0	12,15,18 (2x/j) 12,15,18	195,0 120,0	0/8 b	- 16,2 (21)	-	-	-	-	Tóxico
11			32,5		195,0	0/8	- 18,6 (21)	-	-	-	-	Tóxico
			25,0		75,0							
12			32,5		195,0	0/8	- 18,2 (19)	-	-	-	-	Tóxico
			10,0		30,0							
13			32,5		195,0	0/8	- 18,4 (19)	-	-	-	-	Tóxico
			2,5		7,5							
14			20,2		121,2	0/8	- 13,0 (21)	50,9	32,4	3,0	0/8	HNTD altamente activo
			40,0		120,0							
15			20,2		121,2	0/8	- 11,9 (19)	49,6	31,1	2,9	0/8	altamente activo
			25,0		75,0							
16			20,2		121,2	0/8	- 13,0 (19)	50,7	32,2	3,0	0/8	altamente activo
			10,0		30,0							
17			20,2		121,2	0/8	- 12,5 (19)	49,7	31,2	2,9	0/8	altamente activo
			2,5		7,5							
18			12,5		75,0	0/8	- 11,0 (19)	46,8	28,3	2,7	0/8	activo
			40,0		120,0							
19			12,5		75,0	0/8	- 11,9 (19)	49,8	31,3	2,9	0/8	altamente activo
			25,0		75,0							
20			12,5 10,0		75,0 30,0	0/8	- 10,0 (21)	47,0	28,5	2,7	0/8	activo
21			12,5		75,0	0/8	- 14,3 (21)	40,0	21,5	2,0	0/8	activo
			2,5		7,5							

ES 2 362 637 T3

1	Vehículo	s.c. 0,1ml	-	12, 15, 18			- 9,6 (25)	18,5			0/10	
		i.v. 0,3 ml	-	12,15,18 (2x/j) (4h después)								



**REIVINDICACIONES**

1. Combinaciones que contienen VEGF Trap con irinotecán terapéuticamente útiles en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas.
- 5 2. Combinaciones según la reivindicación 1 **caracterizadas porque** contienen de 10% a 80 % en peso de VEGF Trap.
3. Productos que contienen VEGF Trap e irinotecán en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas como preparación combinada para una utilización simultánea, separada o escalonada en el tiempo en terapia anticancerígena.
4. Combinaciones que contienen VEGF Trap con irinotecán con la exclusión de cualquier otro derivado quimiotóxico que presente un efecto terapéuticamente sinérgico en el tratamiento de las enfermedades neoplásicas.