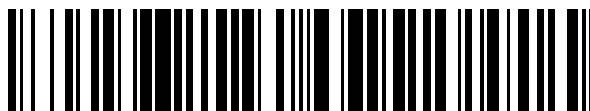


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 920**

51 Int. Cl.:  
**A61K 39/39** (2006.01)  
**A61K 38/19** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **04780361 .4**  
96 Fecha de presentación: **05.08.2004**  
97 Número de publicación de la solicitud: **1653912**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **10.05.2006**

54 Título: **INMUNOTERAPIA DE VACUNA PARA PACIENTES INMUNOSUPRIMIDOS.**

30 Prioridad:  
**08.08.2003 US 637869**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**23.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**23.02.2012**

73 Titular/es:  
**IRX THERAPEUTICS, INC.**  
**140 WEST 57TH STREET, SUITE 9C**  
**NEW YORK, NY 10019, US**

72 Inventor/es:  
**HADDEN, John, W.**

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

**ES 2 374 920 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

Inmunoterapia de vacuna para pacientes inmunosuprimidos

5 La presente invención se refiere a una terapia de vacuna para pacientes con cáncer

Se ha vuelto cada vez más evidente que los cánceres humanos tienen antígenos, que si reaccionan con los sistemas inmunitarios del huésped, conducen a regresión tumoral. Estos antígenos se han definido mediante enfoques inmunitarios tanto serológicos como celulares. Esto ha conducido a la definición de epítomos tanto de células B como T (Sahin U, *et al*, *Curr Opin Immunol* 9:709-715, 1997; Van der Eynde, B, *et al*. *Curr Opin Immunol* 9:684-693, 1997; Wang RF, *et al.*, *Immunologic Reviews* 170:85-100, 1999). Basándose en estos resultados, se ha convertido en un objetivo de los inmunoterapeutas del cáncer inducir regresiones de tumores. Sin embargo, históricamente, los esfuerzos satisfactorios han sido esporádicos y generalmente minoritarios en cuanto a frecuencia y magnitud.

15 Un problema fundamental en el esfuerzo por inmunizar pacientes con cáncer es que el estado que lleva el tumor está asociado con mecanismos inmunosupresores derivados tanto del tumor como del sistema inmunitario alterado del huésped (Kavanaugh D Y, *et al*, *Hematol-Oncol Clinics of North Amer* 10(4):927-951, 1996), haciendo de ese modo la inmunización difícil y hasta ahora imposible en una base constante. La reducción o supresión inmunitaria implica una capacidad reducida del sistema inmunitario para responder. Tal supresión puede estar inducida por enfermedades o fármacos. El estado puede estar inducido por fármacos por el tratamiento, inducido por virus como en el SIDA o inducido por un estado patológico tal como cáncer. El sistema inmunitario en este estado está desactivado de manera eficaz.

25 Se han desarrollado una variedad de estrategias de inmunización tumoral. Sin embargo, todas las estrategias de este tipo son complejas y se desvían significativamente de las estrategias de inmunización convencionales usadas para enfermedades infecciosas (Weber J. *Tumor, Medscape Anthology* 3:2, 2000). Una estrategia de inmunización tumoral de este tipo implica un material comercializado con el nombre comercial Theratope, un antígeno sialil TN polisacárido mucina conjugado con hemocianina de lapa californiana y administrado con adyuvante de micobacterias Detox (Detox es una marca comercial) y ciclofosfamida a dosis baja (Maclean G D, *et al*, *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 19(4):309-316, 1996). Sin embargo, el uso de esta vacuna en pacientes con cáncer de ovarios o mama metastásico ha producido respuestas clínicas importantes en un bajo porcentaje de pacientes. Una respuesta importante significa una reducción del tumor de más del 50%.

35 También se ha intentado terapia génica usando un constructo de adenovirus como vector de expresión para genes que expresan el péptido 16 del virus del papiloma para la inmunización de pacientes con cáncer de cuello uterino y ha producido respuestas clínicas importantes en un bajo porcentaje de pacientes (Borysiewickz L K, *et al*, *Lancet* 347:1524-1527, 1996).

40 También se ha intentado terapia mediada por células dendríticas, en la que se pulsaron células dendríticas con fragmentos de oligopéptidos de antígenos específicos de la próstata (PSA). Se ha usado el antígeno de membrana específico de la próstata (PSMA) en pacientes con cáncer de próstata metastásico con respuestas clínicas importantes en un bajo porcentaje de pacientes (Sanda M G, *et al*, *Urology* 52:2, 1999; Murphy GP, *et al*, *The Prostate*. 38:43-78, 1999).

45 Adicionalmente, se han usado tumores autólogos con ciclofosfamida a baja dosis y BCG para inmunizar pacientes con cáncer con melanoma maligno. Sin embargo, se notificaron pocas respuestas clínicas (Mastrangelo M J, *et al*, *Seminars in Oncology* 23(6):773-781, 1996). Otra estrategia intentada incluía el uso de antígenos MAGE con una variedad de adyuvantes de vacuna. De nuevo, esto ha producido pocas, si acaso algunas, respuestas en pacientes con melanoma maligno.

50 Las patentes estadounidenses 5503841; 5800810; 6060068; 5643565 y 5100664 (todas a nombre de Doyle) dan a conocer métodos de potenciación de la respuesta inmunitaria en pacientes usando interleucina 2-(IL-2). Este método se da a conocer para su uso en respuesta a enfermedades infecciosas y principalmente funciona usando antígenos que se sabe que son inmunogénicos.

55 Tal como se dio a conocer anteriormente, se sabe que el tratamiento del cáncer requiere diferentes enfoques. Hasta la fecha, el tratamiento con IL-2 ha mostrado efectos minoritarios en dos cánceres, melanoma maligno y de células renales (tasas de respuesta inferiores al 20%). Se considera generalmente ineficaz en cáncer de células escamosas de cabeza y cuello (H&NSCC); en cáncer de cuello uterino y en cáncer de próstata. Por tanto, no está aprobado para estos usos. Por tanto, no sería obvio, basándose en el método de las patentes anteriores, usar péptidos pequeños en el tratamiento del cáncer.

65 Es importante contrastar la prevención con antígenos "clásicos" conocidos de estructura compleja y altos pesos moleculares en pacientes sanos frente al tratamiento (generalmente insatisfactorio) con antígenos o péptidos tumorales (generalmente insatisfactorio) en pacientes inmunosuprimidos (generalmente insatisfactorio). Lo primero

es fácil y las vacunas virales actuales atestiguan su eficacia. Lo último es casi imposible en una base rutinaria a pesar de 30 años de intenso esfuerzo.

Se ha propuesto ahora la inmunización con péptidos endógenos procesados y presentados por células dendríticas o administrados endógenamente a un entorno (ganglio linfático) en el que se han preparado células dendríticas y pueden presentarlos a células T eficazmente. Esto se consideró una vez que era un reto insuperable. Los péptidos son demasiado pequeños como para ser inmunógenos eficaces; su vida media es corta, son a menudo autoantígenos no mutados para los que el paciente es inmunológicamente tolerante y la obtención de una respuesta equivale a inducir autoinmunidad.

En varias de las estrategias anteriores, se ha inducido inmunidad celular y/o tumoral a antígenos asociados a tumores (Weber J. Tumor, Medscape Anthology 3:2, 2000; Maclean G D, *et al*, J Immunother Emphasis Tumor Immunol 19(4):309-316,1996; Borysiewickz L K, *et al*, Lancet 347:1524-1527, 1996; Sanda M G, *et al*, Urology 52:2,1999). Esto es especialmente así en asociación con la regresión tumoral. No obstante, la tasa de éxito de tales tratamientos es insignificante e inconstante (<30%).

Ahora se sabe que NCM, una mezcla de citocinas no recombinantes, es activa en el desbloqueo de la inmunización en un ganglio linfático regional. NCM, tal como se define en las patentes estadounidenses 5632983 y 5698194, se prepara (en resumen) en presencia continua de un antibiótico de 4-aminoquinolona y con la presencia continua o pulsada de un mitógeno, que en la realización preferida es PHA.

Los documentos WO02/34119 y WO03/035004 dan a conocer ambos el uso de una mezcla de citocinas naturales (NCM) de este tipo, que incluye las citocinas IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-gamma, TNF alfa, G-CSF y GM-CSF, para el tratamiento de pacientes con cáncer, generalmente mediante inyección, dando como resultado la maduración de células dendríticas inmaduras en ganglios linfáticos regionales. Estos documentos proporcionan un gran conjunto de información referente a cómo la NCM puede administrarse (normalmente mediante inyección alrededor de vasos linfáticos que drenan a ganglios linfáticos), en algunas realizaciones junto con timosina  $\alpha$ 1. La NCM puede administrarse además junto con ciclofosfamida (CY) y un fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE) tal como indometacina (INDO).

Se proporcionan ejemplos e instrucciones detalladas en ambos documentos de los modos de administración y los modos de acción en pacientes inmunosuprimidos, por ejemplo, junto con un "adyuvante" que puede potenciar la respuesta inmunitaria a un antígeno particular, y junto con un antígeno asociado al tumor endógeno o exógeno.

El ejemplo 1 del documento WO03/035004 da a conocer las pruebas previas de pacientes con una prueba cutánea usando NCM, aunque la terapia con NCM está indicada sólo tras un resultado positivo que muestra receptividad a NCM. En otras palabras, el uso de NCM está contraindicado tras obtenerse un resultado negativo de este tipo. El análisis adicional de los datos clínicos, patológicos y de supervivencia del estudio de ese ejemplo ofrece más comprensión ya que se refiere a la inmunización de pacientes con cáncer frente a sus propios antígenos tumorales autólogos y la regresión inmunitaria resultante de sus tumores.

En los dibujos adjuntos, la figura 1, que es un gráfico que ilustra el porcentaje de supervivencia de pacientes tratados a los 48 meses, muestra que el tratamiento de pacientes con NCM (denominado IRX-2) está asociado con un aumento de la supervivencia a los 48 meses ( $p < 0,01$ ).

La figura 2 es un gráfico que ilustra la supervivencia de pacientes que responden de manera parcial y completa en comparación con pacientes que no responden y que responden de manera minoritaria, tal como se explicará en el presente documento. La figura muestra que las respuestas clínicas determinan la supervivencia, porque pacientes con respuesta completa (RC) y respuesta parcial (RP) (reducción del tumor de >50%) tienen mejor tasa de supervivencia que los que tienen respuestas minoritarias (RM) (reducción del tumor de <50%, pero >24%) o no tienen respuesta (NR) (<25%) ( $p < 0,01$ ).

La figura 3, que es un gráfico que ilustra la relación del índice de patología con la supervivencia, muestra que los pacientes con respuestas patológicas más fuertes (índice de 6 a 9) tienen mejor tasa de supervivencia que los que tienen respuestas patológicas más débiles (<6) ( $p < 0,02$ ).

La figura 4, que es un gráfico que muestra la relación de la infiltración de linfocitos con la supervivencia, muestra que la infiltración linfocítica en el tumor como variable única predice la supervivencia.

La figura 5 es un gráfico que ilustra el porcentaje de supervivencia (respuesta a la dosis) de pacientes tratados a los 24 meses, en la que "x" es igual a aproximadamente 100 UI/ml de IL-2.

El análisis de chi-cuadrado de la relación de la respuesta clínica con la respuesta patológica en las figuras anteriores muestra una relación altamente significativa ( $p < 0,01$ ) que indica que las dos están relacionadas coordinadamente entre sí así como con la supervivencia y por tanto proporcionan una triangulación estadística de los datos que interrelacionan las respuestas clínicas, los parámetros de regresión inmunitaria y la supervivencia. Tales relaciones

nunca se han mostrado para la inmunoterapia de un cáncer humano.

Esto ha conducido al sorprendente hallazgo de que puede ser ventajoso administrar la NCM a un paciente con cáncer que muestra un resultado de prueba cutánea negativa a una prueba cutánea de NCM.

5 Por consiguiente, la presente invención comprende el uso de una mezcla de citocinas naturales (NCM) que incluye las citocinas L-1, IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-gamma, TNF-alfa, GM-CSF y G-CSF (incluyendo recombinantes de las mismas) para la inmunoterapia de un paciente con cáncer en un régimen de dosificación que comprende

10 (i) la aplicación de dicha mezcla de citocinas naturales en una cantidad de prueba cutánea a un paciente con cáncer de manera que dicha aplicación muestra una respuesta clínica o bien positiva o bien negativa a dicha prueba cutánea en el plazo de 24 horas, y

15 (ii) la administración intracutánea posterior de dicha mezcla de citocinas naturales a un paciente con cáncer que muestra dicha respuesta clínica negativa a dicha aplicación en la etapa (i).

Se exponen características preferidas de la presente invención en las reivindicaciones dependientes.

20 La figura 5 mencionada anteriormente ilustra una serie de dosis de NCM sobre una supervivencia global durante 24 meses. Un impacto óptimo sobre la supervivencia es a lo largo del intervalo de 100 a 233 equivalentes ya que esta cantidad tiene un impacto óptimo sobre la supervivencia. No se observó efecto a aproximadamente 16 unidades y menos efecto a aproximadamente 1320 unidades.

25 Tal como se describió anteriormente en los documentos WO02/34119 y WO03/035004 mencionados anteriormente, la NCM para su uso según la invención es preferiblemente para su inyección alrededor de vasos linfáticos que drenan a ganglios linfáticos regionales con respecto un tumor.

30 La NCM se administra de manera conjunta preferiblemente con CY y un AINE. El AINE de elección es indometacina (INDO). Sin embargo, también pueden usarse ibuprofeno, celecoxib, rofecoxib y otros inhibidores de CoxII como AINE. Los efectos secundarios de los AINE deben tratarse agresivamente con inhibidores de protones y un análogo de prostablandina E.

35 El zinc y las multivitaminas son agentes útiles para ayudar a restaurar la inmunidad de células T, posiblemente incluyendo la adición de selenio. La dosificación preferible de zinc es de 50 a 75 mg. Puede administrarse una multivitamina convencional. El zinc puede ser un gluconato disponible.

La presente invención se ilustrará ahora adicionalmente con referencia al siguiente ejemplo de trabajo.

### 40 Ejemplo

Tal como se mencionó anteriormente, el documento WO 03/035004 sugiere que los pacientes con una prueba cutánea intradérmica negativa a la NCM podrían mostrar escasas respuestas clínicas.

45 Sin embargo, se ha acumulado ahora una serie de pacientes negativos para la prueba cutánea y se ha encontrado que muestran cambios similares a la combinación de CY e INDO sin NCM significativa. Diez pacientes tenían pruebas cutáneas negativas (incluyendo cuatro del Juarez Hospital) con NCM (es decir, insensibles a NCM) y se trataron con la NCM más CY e INDO. Estos pacientes tenían escasas respuestas clínicas, menos fragmentación y reducción del tumor y escasa supervivencia (20%) (véase la tabla 1). Estas observaciones corroboran la conclusión de que INDO y CY tienen una actividad marcada sin NCM.

50 De manera importante, confirman que la prueba cutánea es crítica para pronosticar las respuestas patológicas y clínicas enérgicas que se relacionan con una supervivencia mejorada. Además, una prueba cutánea negativa pronostica la incapacidad de los pacientes para responder a la cirugía con o sin radioterapia. La prueba cutánea de NCM puede emplearse de manera útil para pronosticar el desenlace terapéutico en H & N SCC. Anteriormente, pruebas cutáneas de dinitroclorobenceno (DNCB) mostraban significación de pronóstico en H & N SCC, pero debido al engorroso procedimiento que requería sensibilización, ya no se usa en la práctica clínica. La prueba cutánea de NCM ofrece una prueba de veinticuatro horas conveniente. De manera interesante, estos pacientes se dividieron en dos grupos. En un grupo, tabla I(b), las respuestas eran especialmente escasas sin supervivientes. En el otro grupo, tabla I(a), estos pacientes convirtieron la prueba de NCM negativa en una positiva tras el tratamiento y mostraron respuestas clínicas y patológicas y supervivencia similares a pacientes que siguen el protocolo.

65 Uno de estos pacientes tenía un tumor que se consideraba inoperable y se mostró que convertía la prueba negativa en positiva y permitía que un segundo tratamiento redujera clínicamente el tumor y mediante criterios patológicos y permitía una supervivencia prolongada tras cirugía (> 7 años). Este tratamiento previo de pacientes negativos para la prueba cutánea de NCM puede aumentar las tasas de respuesta. También puede pronosticarse que NCM más timosina  $\alpha_1$  funciona (véase la solicitud estadounidense publicada n.º 20030124136). La prueba cutánea de NCM

negativa refleja un defecto de monocitos y se pronosticaría que el tratamiento con citocinas activas en monocitos de forma natural o recombinante sería útil individualmente o en combinación de las mismas. Éstas incluyen, pero no se limitan a, GM-CSF, M-CSF, IFN- $\delta$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 y otras.

5

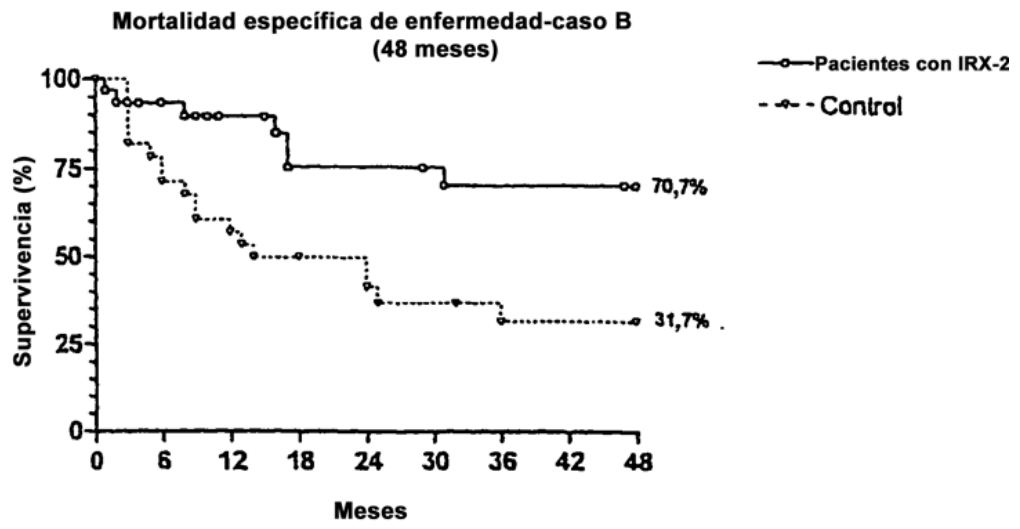
**Tabla I: Pacientes con prueba cutánea de NCM negativa**

Tabla I(a) Paciente n.º	Iniciales de los pacientes	% de tumor	% de sólido	% de frag.	% de estroma	% de linf.	Reducción absoluta del tumor	Resp. subj.	Estado
La prueba cutánea de NCM negativa cambió a positiva									
13	ANA	48	15	33	16	36	42	RP	Vivo > 24 meses
15	ICV	70	63	7	6	24	5	RM	Vivo > 24 meses
22	JMM	50	10	40	10	40	30	RP	Murió sin enfermedad a los 9 meses
27	MVR	70	28	42	12	18	10	RP	Perdido hasta el seguimiento
Media		60	29	31	11	30	22		
DE		12	24	16	4	10	17		
Tabla I(b) Prueba cutánea de NCM negativa									
29	JISM	80	80	0	10	10	0	NR	Murió de enfermedad < 1 año
30	AGM	80	48	32	10	10	0	NR	Murió de enfermedad < 1 año
35	NGS*	70	70	0	0	30	0	NR	Murió de enfermedad < 1 año
36	GCS*	50	15	35	10	40	40	NR	Murió de enfermedad < 1 año
37	MJBV*	80	16	64	16	4	0	NR	Murió de enfermedad < 1 año
39	FHV*	70	28	42	25	5	0	NR	Murió de enfermedad < 1 año
Media		72	43	29	12	17	7		
DE		12	28	25	8	15	16		

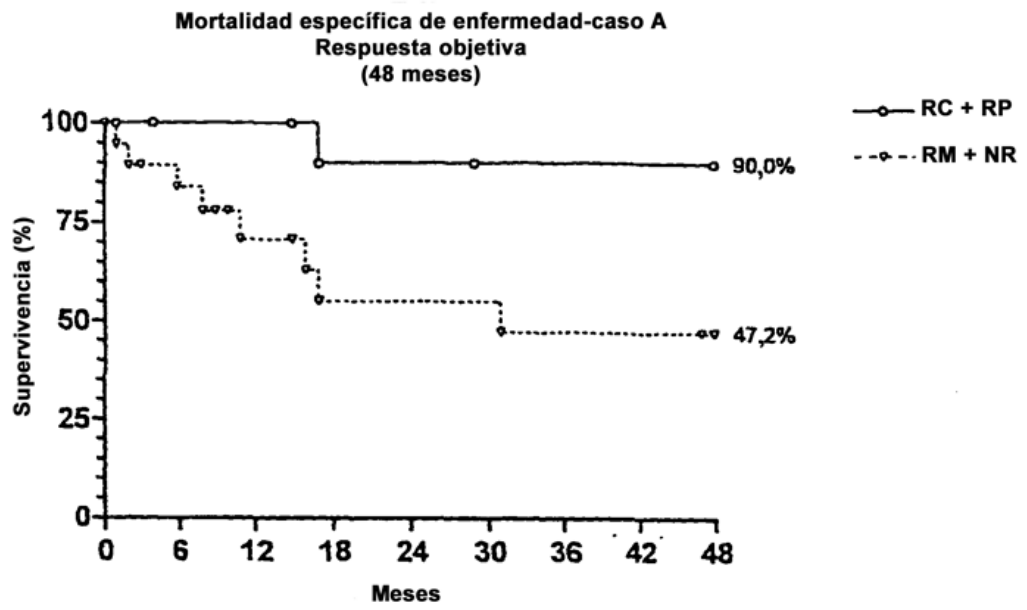
\*Extraído de JUAREZ Hospital Experience

**REIVINDICACIONES**

- 5 1. Mezcla de citocinas naturales (NCM) que incluye las citocinas IL-1 IL-2, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-gamma, TNF-  
alfa, GM-CSF y G-CSF, para su uso en inmunoterapia de un paciente con cáncer en un régimen de  
dosificación que comprende
- 10 (i) la aplicación de dicha mezcla de citocinas naturales en una cantidad de prueba cutánea a un paciente  
con cáncer de manera que dicha prueba cutánea muestra una respuesta clínica o bien positiva o bien  
negativa a dicha prueba cutánea en el plazo de 24 horas, y
- 15 (ii) la administración intracutánea posterior de dicha mezcla de citocinas naturales a un paciente con cáncer  
que muestra dicha respuesta clínica negativa a dicha aplicación en la etapa (i).
2. Uso según la reivindicación 1, en el que se emplean de 100 a 233 unidades de dicha IL-2 en dicha  
administración.
3. Uso según la reivindicación 1 ó 2, en el que dicha administración precede a la cirugía, con o sin  
radioterapia.
- 20 4. Uso según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que dicha administración es junto con  
ciclofosfamida e indometacina.

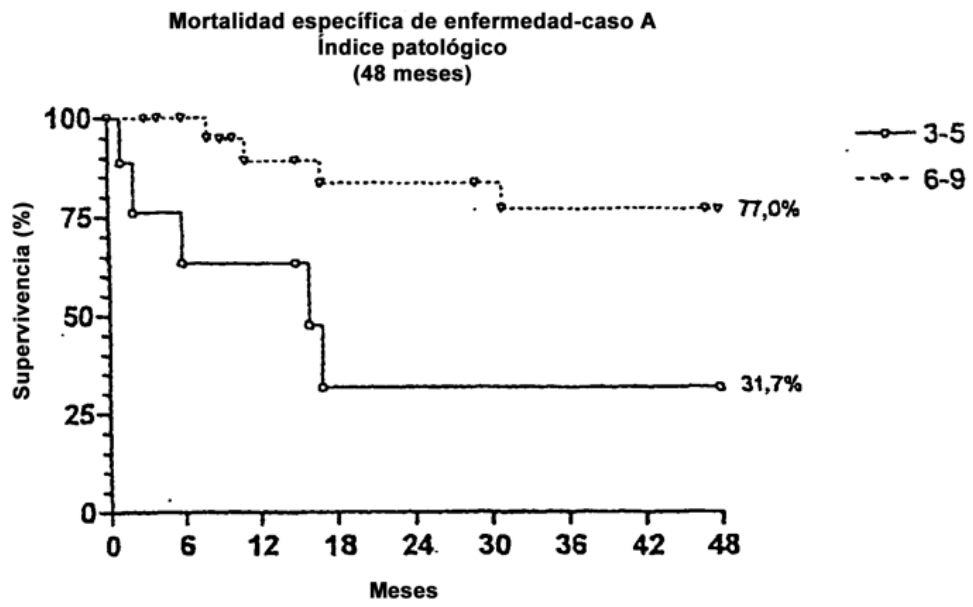


**Figura 1**

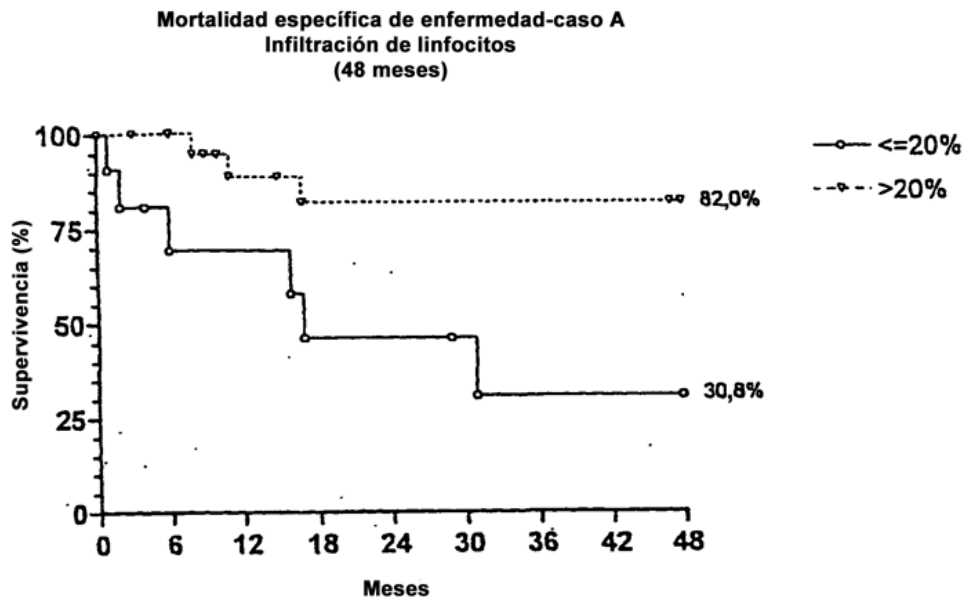


**Figura 2**





**Figura 3**



**Figura 4**

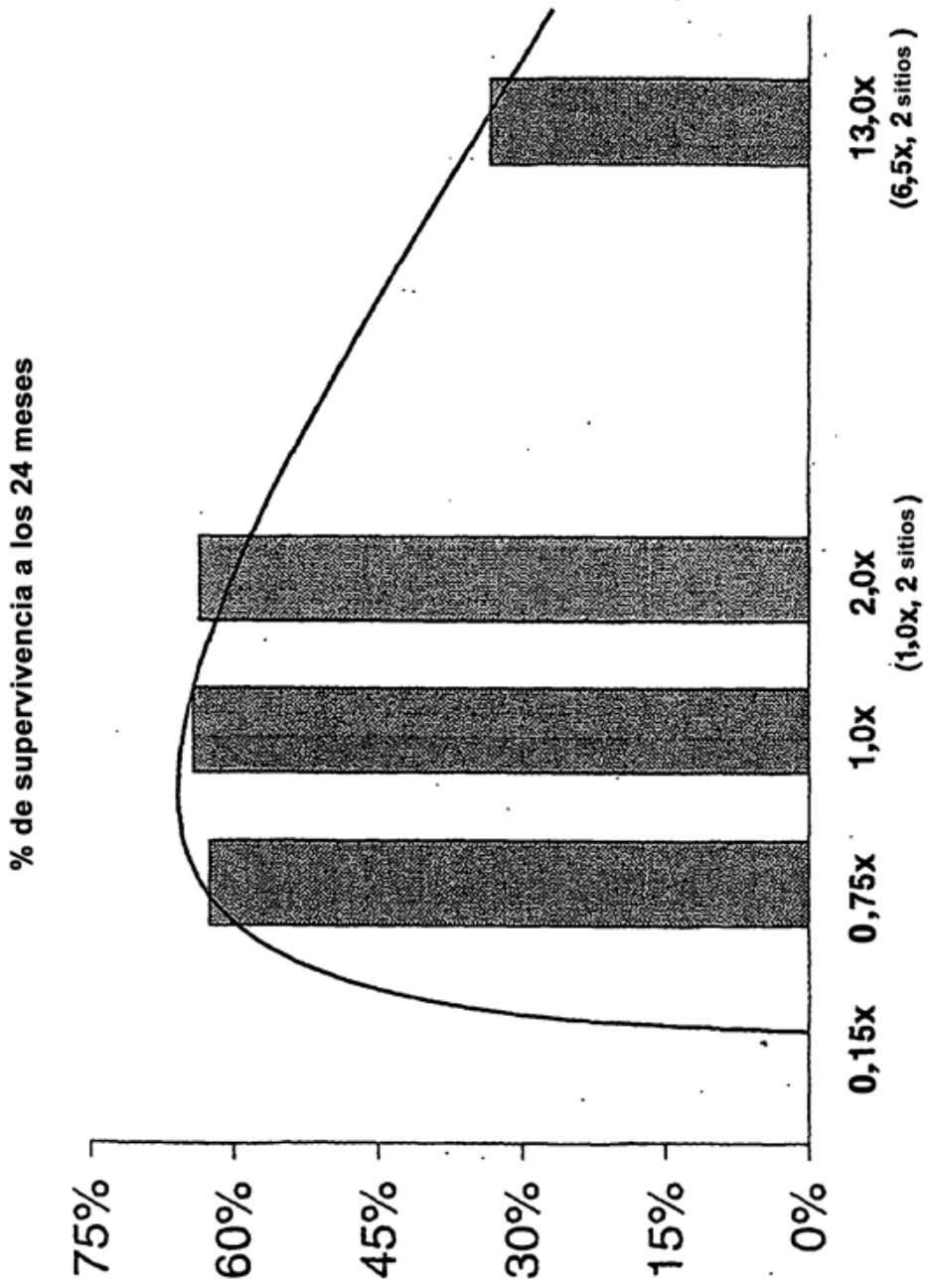


Figura 5