



①1 Número de publicación: **2 376 564**

②1 Número de solicitud: 201001062

⑤1 Int. Cl.:
A61K 39/395 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

②2 Fecha de presentación: **12.08.2010**

④3 Fecha de publicación de la solicitud: **15.03.2012**

④3 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
15.03.2012

⑦1 Solicitante/s: **Manuel Vicente Salinas Martín**
c/ Curtidurías, nº 3 - 1º B
41002 Sevilla, ES

⑦2 Inventor/es: **Salinas Martín, Manuel Vicente**

⑦4 Agente/Representante:
Illescas Taboada, Manuel

⑤4 Título: **Utilización de anticuerpos contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3, para producir apoptosis en las células tumorales y modificar el estroma, la inmunidad y la vascularización intra y peritumorales, como tratamiento del cáncer.**

⑤7 Resumen:

Utilización de anticuerpos contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3, para producir apoptosis en las células tumorales y modificar el estroma, la inmunidad y la vascularización intra y peritumorales, como tratamiento del cáncer.

El objeto de la presente invención es la utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo específico contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 de las células, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico del cáncer humano, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre. En especial, en el caso del melanoma, carcinomas (sobre todo carcinoma de mama, de pulmón, del aparato digestivo, de próstata, de tiroides, de cérvix uterino, de endometrio, de ovario y de vejiga de la orina), leucemias, linfomas, neoplasias de extirpe glial, neoplasias de origen neuroectodérmico, sarcoma humano de Edwing, otros sarcomas (como rhabdomyosarcoma y osteosarcoma) y otras neoplasias como neuroblastoma, meduloblastoma y nefroblastoma.

ES 2 376 564 A1

DESCRIPCIÓN

Utilización de anticuerpos contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3, para producir apoptosis en las células tumorales y modificar el estroma, la inmunidad y la vascularización intra y peritumorales, como tratamiento del cáncer.

Objeto de la invención

El objeto de la presente invención es la utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo específico contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 de las células, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico del cáncer humano, mediante la producción de muerte celular o apoptosis de las células tumorales, la modificación del microambiente peritumoral (que consiste en las células estromales, matriz estromal y vascularización intra y peritumoral) y/o la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria circundante al tumor. Especialmente en el caso del melanoma, carcinomas (sobre todo carcinoma de pulmón, carcinoma de mama, carcinomas del aparato digestivo, carcinoma de próstata, carcinoma de tiroides, carcinomas de cérvix uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma de ovario y carcinoma de vejiga de la orina), leucemias (especialmente Leucemia Linfoblástica humana), linfomas (especialmente el linfoma de Burkitt humano), neoplasias de extirpe glial, neoplasias de origen neuroectodérmico, sarcoma humano de Edwing, otros sarcomas (como rhabdomyosarcoma y osteosarcoma) y otras neoplasias como neuroblastoma, meduloblastoma y nefroblastoma.

Sector de la técnica

La presente invención se encuadra en el sector de la medicina. Más en concreto en la biología molecular aplicada a la medicina, la farmacología y la oncología. Específicamente, está relacionada con el uso de anticuerpos terapéuticos para la fabricación de medicamentos para el tratamiento del cáncer en los seres humanos.

Estado de la técnica

Los receptores NK1 (receptor neuropeptídico de la sustancia P), NK2 y NK3 están ampliamente distribuidos en las células de organismo. Se ha constatado su presencia en el sistema nervioso central y periférico de los mamíferos, en el aparato digestivo, en el sistema circulatorio, en las células de extirpe hematopoyética y de respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, así como en los tejidos blandos y especialmente, en el endotelio vascular. Actualmente se conocen numerosos procesos biológicos en cuya regulación están involucrados los receptores NK1, NK2 y NK3.

La sustancia P es un undecapéptido de origen natural, que se produce en los mamíferos cuya secuencia fue descrita por Veber *et al.* (patente US pat. 4,680,283) y que pertenece a la familia de las taquicinas. El receptor NK1 es un receptor de las taquicinas. La implicación de la sustancia P y de otras taquicinas en la etiopatogenia de diversas enfermedades ha sido ampliamente referida en la bibliografía científica.

En este sentido, la acción de las taquicinas se ha relacionado con la etiopatogenia de enfermedades del sistema nervioso humano como la Enfermedad de Alzheimer, la Esclerosis Múltiple, la Enfermedad de Parkinson, la ansiedad y la depresión (*Neurosci. Res.*, 1996, 1, 187-214 y *Science*, 1998, 281, 164-1645).

También se ha constatado la implicación de las taquicinas en la etiopatogenia de diversas enfermedades con componente inflamatorio como la artritis reumatoide, el asma, la enfermedad inflamatoria intestinal, la rinitis alérgica, las enfermedades inflamatorias intestinales como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (Auton J: Tachykinin Receptor and Tachykinin Receptor Antagonist. *Pharmacol* 1993; 13: 23-93).

En este sentido se han desarrollado antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 como medicamentos para el tratamiento de diversos desórdenes del sistema nervioso central como la depresión, la psicosis y la ansiedad (WO 95/16679, WO 95/18124, WO 95/23798 y WO 01/77100). Se ha descrito que el uso de antagonistas selectivos del receptor NK1 es útil en el tratamiento de las náuseas y el vómito inducido por quimioterápicos antineoplásicos, así como en el tratamiento de ciertas formas de incontinencia urinaria (*Neuropeptides*, 1998, 32 (1), 1-49 y *Eur. J. Pharmacol.*, 1999, 383 (3), 297-303).

En un trabajo publicado en 2003 (Giardina G, *et al.*: Antagonist at the neurokin receptors- Recent patent literatura. *IDrugs* 2003; 6:758-772), se hace una revisión de las patentes más recientes sobre antagonistas de receptores NK1, NK2 y NK3. Se describen las moléculas de los más importantes fabricantes mundiales con indicación de sus posibles aplicaciones entre las que cabe destacar: antidepresivo, antiinflamatorio, ansiolítico, antiemético, tratamiento de la colitis ulcerosa y otros.

En el artículo publicado en el por Antal Orosz *et al.* (*International Journal of Cancer*, 1995, 60, 82-87), se describe el uso de diversos antagonistas de la sustancia P (SP) para inhibir la proliferación de carcinoma de células pulmonares (por ejemplo en células designadas NCI-H69). De otra parte, en el artículo publicado en *Cancer Research*, 1994, 54, 3602-3610, se describen antagonistas de la Sustancia P capaces de inhibir el crecimiento *in Vitro* de varias líneas celulares pulmonares cancerosas (por ejemplo las células designadas NCI-H510, NCI-H345 y SHP-77).

En el artículo cuya referencia es Life Sci; 2000, 67(9), 985-1001, se describe que los astrocitos del sistema nervioso central expresan receptores funcionales para varios neurotransmisores incluidos los receptores NK1. En los tumores cerebrales, las células gliales malignas derivadas de astrocitos desencadenan bajo la acción de las taquicinas y por mediación de los receptores NK1, la secreción de mediadores que aumentan su velocidad de proliferación. Consecuentemente, los antagonistas selectivos del NK1 pueden ser muy útiles como agentes terapéuticos para el tratamiento de gliomas malignos.

En la patente EP 773026 (Pfizer) se hace referencia a la utilización de antagonistas no peptídicos del receptor NK1 para el tratamiento de cánceres en mamíferos. Particularmente en el tratamiento de pequeños carcinomas pulmonares, APUDoma, tumor neuroendocrino y pequeños carcinomas extra-pulmonares.

Por otro lado en la patente WO 2001001922 se describe el uso de antagonistas de receptores NK1 para el tratamiento de adenocarcinoma y muy específicamente los carcinomas prostáticos.

Diversos estudios con antagonistas específicos de NK1 y NK2 (como CP-96341-1 -Pfizer-, MEN 11467, SR 48968 -Sanofi- y MEN 11420 -nepadutant-) han demostrado eficacia de los mismos en el bloqueo de la proliferación celular (Singh *et al.*, "Increased expression of preprotachykinin-I and neurokinin receptors in human breast cancer cells: implications for bone marrow metastasis", PNAS 2000, vol. 97, pp. 388-93 y M. Bigioni *et al.*, "Role of NK-1 and NK-2 tachykinin receptor antagonism on the growth of human breast carcinoma cell line MDA-MB-231". Anti-cancer drugs 2005. vol. 16, pp. 1083-9).

Se ha descrito que los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 inducen apoptosis (muerte celular) en las células tumorales de diversos tumores como el carcinoma de estómago, el carcinoma de colon (Rosso M, Robles-Frías MJ, Coveñas R, Salinas-Martín MV, Muñoz M. The NK-1 receptor is expressed in human primary gastric and colon adenocarcinomas and is involved in the antitumor action of L-733,060 and the mitogenic action of substance P on human gastrointestinal cancer cell lines. Tumour Biol. 2008; 29:245-54) o el melanoma (Muñoz M, Rosso M, Robles-Frías MJ, Salinas-Martín MV, Rosso R, González-Ortega A, Coveñas R. The NK-1 receptor is expressed in human melanoma and is involved in the antitumor action of the NK-1 receptor antagonist aprepitant on melanoma cell lines. Lab Invest. 2010 Aug; 90(8): 1259-69). Así mismo, se ha descrito que estos receptores están sobre-expresados en las células cancerosas.

La patente con referencia ES 2 246 687 (inventor: Muñoz Sáez, Miguel) reivindica la "utilización de los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de la sustancia P en la elaboración de una composición farmacéutica para la producción de apoptosis en células tumorales de mamíferos" y por lo tanto "para el tratamiento del cáncer".

Los anticuerpos son compuestos peptídicos con capacidad para unirse de forma altamente selectiva a diversas moléculas orgánicas. Su unión a determinados receptores celulares induce una modificación en la actividad de los mismos, lo que puede determinar una modificación en las actividades fisiológicas habituales del metabolismo celular.

El uso de anticuerpos monoclonales dirigidos contra el dominio extracelular de diversos receptores celulares como tratamiento para el cáncer, está ampliamente difundido en la clínica. Entre estos anticuerpos monoclonales terapéuticos aprobados para su uso en oncología, destacan el trastuzumab que es un anti-ErbB2/HER2 para el cáncer de mama, el cetuximab que es un anti-ErbB1/EGFR para el cáncer de colon y bevacizumab que es un anti-VEGF (receptor del factor de crecimiento derivado del endotelio vascular) para diversos tipos de cánceres (G. Adams *et al.*, "Monoclonal antibody therapy of cancer", Nature Biotechnology; 2005, 23, 1147-57).

La patente con referencia (WO/2009/125039-PCT/ES2009/000191) reivindica el "Uso de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra la sustancia P, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de cánceres que expresen el receptor NK1 y/o un miembro de la familia de receptores ErbB, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre".

Por lo tanto y en conclusión, en la actualidad son conocidos en el estado del arte, los siguientes hechos:

1. que los receptores NK1, NK2 y NK3 están ampliamente difundidos en el organismo del ser humano.
2. que las taquicinas y en concreto la sustancia P actúan sobre el receptor NK1.
3. que es posible la utilización de antagonistas no peptídicos de los receptores NK1 para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de diversos desórdenes del sistema nervioso central como la depresión, la psicosis y la ansiedad lo que ha sido objeto de reivindicación en diversas patentes (WO 95/16679, WO 95/18124, WO 95/23798 y WO 01/77100).
4. que dichos receptores están sobre-expresados en las células cancerosas, respecto a las células no cancerosas normales del organismo humano.
5. que la utilización de antagonistas no peptídicos del receptor NK1 ha demostrado efectos sobre las células tumorales, que se traducen en la apoptosis (muerte celular) de las mismas. En este sentido se ha reivindicado la "utilización de los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de la sustancia P en la elaboración

ES 2 376 564 A1

de una composición farmacéutica para la producción de apoptosis en células tumorales de mamíferos” y por lo tanto “para el tratamiento del cáncer” en la patente ES 2 246 687 (inventor: Muñoz Sáez, Miguel).

6. que la “administración directa de un anticuerpo contra la sustancia P a diferentes líneas celulares tumorales disminuye la proliferación de la célula tumoral e induce muerte de la célula tumoral”, como se recoge en el documento de patente con referencia WO/2009/125039-PCT/ES2009/000191, en el que se reivindica el “uso de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra la sustancia P, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de cánceres que expresen el receptor NK1 y/o un miembro de la familia de receptores ErbB, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre”.
7. que, como ha quedado dicho, la patente con referencia ES 2 246 687 (inventor: Muñoz Sáez, Miguel) reivindica el uso de antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de la sustancia P (y enumera un determinado número de los mismos, de forma concreta). Por lo tanto, no incluye a los anticuerpos o fragmentos derivados de los mismos, que son de naturaleza, obviamente y claramente peptídica. Este hecho ha permitido, por ejemplo, que se haya podido dar curso a la patente con referencia WO/2009/125039-PCT/ES2009/000191, que reivindica el uso de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra la sustancia P para el tratamiento terapéutico del cáncer. Ya que obviamente, como ha quedado expuesto en el anterior apartado, los anticuerpos son de naturaleza peptídica, lo que ha evitado la existencia de conflicto entre ambas patentes (ES 2 246 687 -inventor: Muñoz Sáez, Miguel- y WO/2009/125039).
8. se ha demostrado la presencia de receptores NK1, NK2 y/o NK3 en las células hemáticas involucradas en la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, en las células de la matriz estromal y en las células propias de la vascularización que rodean a las células tumorales. Se sabe que las células estromales, las células hemáticas involucradas en la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria y las células propias de la vascularización influyen en la evolución del tumor.

No obstante, las anterioridades conocidas, que incluyen (de manera resumida) la utilización de los antagonistas no peptídicos de receptores NK1 y de un anticuerpo o un fragmento del mismo específicos contra la Sustancia P como tratamiento del cáncer, el objeto de la presente invención (y la ventaja técnica que aporta) es la utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo dirigido contra los receptores celulares NK1 (receptor neuropeptídico de la sustancia P), NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento terapéutico del cáncer por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre. Ya que dichos anticuerpos pueden modificar la actividad de estos receptores induciendo apoptosis de las células tumorales, cambios en los tejidos peritumorales y modificaciones en la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, con efectos terapéuticos beneficiosos.

Explicación de la invención

El objeto de la presente invención es la utilización de un anticuerpo o fragmento del mismo dirigido contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 para la producción de muerte celular y apoptosis en las células tumorales de los seres humanos y para la inducción de modificaciones en el microambiente que rodea a dichas células tumorales (matriz estromal, células estromales, células propias de la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria y células propias de la vascularización de las zonas tumorales y peritumorales), como tratamiento del cáncer en seres humanos. En este sentido, se sabe, como se ha indicado en el apartado correspondiente al estado de la técnica, que el estroma circundante al tumor, la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria y la vascularización tumoral y peritumoral, desempeñan un papel relevante en la progresión del cáncer.

Los anticuerpos dirigidos contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 constituyen unos antagonistas altamente específicos contra dichos receptores, que modifican o bloquean la actividad de los mismos e inducen la muerte y apoptosis de las células tumorales, así como cambios en las células del estroma y la matriz estromal, que circundan a dichas células tumorales, cambios en las células hemáticas involucradas en la inflamación y en la inmunidad, además de cambios en la vascularización de las zonas tumorales y peritumorales. Esto se traduce en una reducción del tamaño tumoral. Así, la presente invención está relacionada con el uso de un anticuerpo o un fragmento del mismo, dirigido contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 por administración directa al ser humano.

La invención puede alternativamente ser formulada como un método para el tratamiento terapéutico del cáncer en el hombre, que comprende la administración de una cantidad efectiva de un anticuerpo o un fragmento del mismo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 lo que modifica la actividad de los mismos en las células.

En esta invención, el término “administración directa” significa que el tratamiento no se hace mediante vacunación con una forma inmunogénica de los receptores NK1, NK2 y/o NK3 para la producción de anticuerpos por el mismo paciente. En la presente invención, el anticuerpo se produce fuera del cuerpo y se administra al paciente.

El tratamiento propuesto por la presente invención es útil para pacientes afectados de cáncer, en estado asintomático, sintomático, en tratamiento neoadyuvante (tratamiento antes de cirugía), en tratamiento adyuvante (tratamiento complementario después de la cirugía, cuando no hay tumor macroscópico detectable) y en tratamiento de la enfermedad en estadio metastático.

ES 2 376 564 A1

Por “cáncer” se entiende un tumor maligno de potencial crecimiento ilimitado que se expande localmente por invasión y sistémicamente por metástasis. De acuerdo con la presente invención, el anticuerpo o el fragmento del mismo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3, se administran a individuos con un cáncer.

5 Las células tumorales sobre las que actúan los anticuerpos dirigidos contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 se seleccionan de entre células primarias de melanoma maligno invasivo humano, células metastásicas de melanoma humano, células de melanoma humano localizadas en ganglio linfático, células de glioma humano, células de carcinoma de mama humano, células de carcinoma de pulmón de células pequeñas humano, células de carcinoma de pulmón de células grandes humano, células de carcinoma pancreático humano, células de carcinoma de próstata humano, células de carcinoma de colon humano, células de carcinoma de estómago humano, células de carcinoma de ovario humano, células de carcinoma de endometrio humano, células de carcinoma de cérvix uterino humano, células de carcinoma de tiroides humano, células de carcinoma de vejiga de la orina humano, células de leucemia linfoblástica aguda de células B humana, células de leucemia linfoblástica aguda de células T humana, células de linfoma de Burkitt humano, células de linfoma de Hodgkin humano, células de neuroblastoma humano, células de Sarcoma de Ewing humano, 15 células de Rabdomyosarcoma humano y células de Osteosarcoma humano, entre otras.

Como se usa aquí “anticuerpo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3” significa cualquier anticuerpo policlonal o monoclonal contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3. La invención también contempla el uso de fragmentos de estos anticuerpos. Un fragmento significa una parte de un anticuerpo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 que es de un tamaño suficiente y conformación adecuada para unirse a un epítipo presente en los receptores NK1, NK2 y/o NK3 y así modificar su funcionamiento normal, incluyendo el hecho de evitar que la sustancia P se una a estos receptores. 20

Como se usa aquí, el término “específico” significa que el anticuerpo no tiene asociaciones al azar con otros antígenos. Numerosas técnicas de ensayo bien conocidas basadas en reacciones inmunológicas entre antígenos y anticuerpos pueden ser utilizadas usando los receptores NK1, NK2 y/o NK3 como antígeno para determinar si un anticuerpo particular o un fragmento de anticuerpo tiene la capacidad de unirse a un epítipo presente en los receptores NK1, NK2 y/o NK3, y para, potencialmente, modificar la actividad de los mismos. Estas técnicas pueden ser, por ejemplo, “enzyme-linked immunosorbent assays” (ELISA), ensayos de inmunofluorescencia (IFA), radioinmunoensayos, inmunoelectroforesis, e “immunoblotting”. Además, para determinar si un anticuerpo particular o un fragmento de anticuerpo tiene la capacidad de tratar el cáncer, se puede usar un ensayo de inducción de apoptosis, que incluya la tinción con DAPI (4'-6-diamidino-2-fenylindole) o con anexina. 30

Constituye otro objeto de la presente invención la utilización de un anticuerpo o fragmento del mismo generado para modificar el funcionamiento de los receptores NK1, NK2 y NK3, en la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer. 35

Debe entenderse que el anticuerpo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 esta en una forma aceptable farmacéuticamente para ser administrado a un individuo de forma intravenosa, oral, parenteral, o de otra manera. Además, el anticuerpo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 de la invención puede ser administrado sólo o en una composición con vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables. Una persona experta en la materia adaptará la composición dependiendo de la forma particular de administración. En el caso de administrar un anticuerpo purificado, la administración oral es el método preferido y se consigue preferiblemente a través de formas de dosificación sólidas, que incluyen cápsulas, tabletas, pastillas, polvos y gránulos, entre otros, o por formas de dosificación líquida. Las preparaciones del anticuerpo contra los receptores NK1, NK2 y/o NK3 para la administración parenteral preferentemente incluye soluciones acuosas o no acuosas estériles, suspensiones o emulsiones, entre otras. 45

La dosificación del ingrediente activo podrá ser seleccionada dependiendo del efecto terapéutico deseado, la vía de administración y la duración del tratamiento. La dosis de administración y la frecuencia dependerán del tamaño, edad y condiciones de salud generales del individuo, teniendo en cuenta la posibilidad de efectos secundarios. La administración también dependerá del tratamiento simultáneo con otros fármacos y la tolerancia de cada individuo al fármaco administrado. Las personas expertas en la materia podrán establecer la dosis apropiada usando procedimientos estándares. Se entiende que la dosis deberá ser la cantidad efectiva de anticuerpo en el sentido de que el tratamiento tenga como mínimo el mismo o mejor efecto que las terapias actuales en estos pacientes. 50 55

La composición deberá comprender el anticuerpo como único agente contra el cáncer o combinaciones con otros agentes terapéuticos dependiendo de la condición.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos aquí usados tienen el mismo significado a los habitualmente entendidos por una persona experta en el campo de la invención. Métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos pueden ser usados en la práctica de la presente invención. A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Las realizaciones particulares y los datos presentados, se proporcionan a modo de ilustración y no se pretende que sean limitativos de la presente invención. 60 65

ES 2 376 564 A1

Descripción detallada de alguna de las realizaciones preferidas

A continuación se detalla una selección de las líneas celulares específicas sobre las que actúan los anticuerpos dirigidos hacia los receptores NK1, NK2 y/o NK3:

- 5 1. Relacionadas con el melanoma humano: COLO 858 (ICLC, Interlab Cell line collection -CBA- Génova), MEL HO (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) y COLO 679 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
- 10 2. Relacionadas con el carcinoma de pulmón de células pequeñas humano: COLO-677 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
- 15 3. Relacionadas con el cáncer de mama humano: MT-3 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
4. Relacionadas con el glioma humano y el neuroblastoma humano: GAMG (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen) y SK-BE (2) (ICLC, Interlab Cell line collection -CBA- Génova).
- 20 5. Relacionadas con la leucemia linfoblástica B: SD1 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
6. Relacionadas con la leucemia linfoblástica T: BE-13 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
- 25 7. Relacionadas con el linfoma de Burkitt humano: CA-46 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
8. Relacionadas con el linfoma de Hodgkin humano: KM-H2 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
- 30 9. Relacionadas con el rhabdomyosarcoma humano: a-204 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
- 35 10. Relacionadas con el sarcoma de Edwing humano: MHH-ES-1 (DSMZ, Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen).
11. Relacionadas con el osteosarcoma humano: MG-63 (ICLC, Interlab Cell line collection -CBA- Génova).
- 40 12. Relacionadas con las células humanas de la matriz estromal, de la vascularización y de la respuesta inflamatoria e inmunológica.

45 Con el objetivo de analizar si se producía muerte celular o apoptosis como resultado de la modificación de la actividad de los receptores NK1, NK2 y/o NK3 mediante el tratamiento con el anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3, se realizó:

1. Siembra de cultivos celulares de las líneas celulares relacionadas con cánceres humanos según recomendaciones de los fabricantes y usos habituales de laboratorio.
- 50 2. Siembra de cultivos celulares de las líneas celulares relacionadas con las células humanas de la matriz estromal, de la vascularización y de la respuesta inflamatoria e inmunológica, según recomendaciones de los fabricantes y usos habituales de laboratorio.
- 55 3. Tratamiento de los cultivos celulares con anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3 a diversas diluciones.
4. Determinación de la presencia de apoptosis. La morfología apoptótica se valoró por microscopía de fluorescencia después de hacer una tinción con DAPI (Roche). Las células apoptóticas se identificaron por las características típicas de la apoptosis, como son la condensación nuclear, la vacuolización nuclear, la pérdida de la integridad de la membrana nuclear y la formación de cuerpos apoptóticos.
- 60 5. Confirmación de la presencia de apoptosis mediante el análisis de los sobrenadantes que incluían las células desprendidas de las placas de Petri. Para comprobar si dichas células se habían desprendido de la placa de Petri a causa de la apoptosis de las mismas, se realizó, así mismo, tinción de DAPI de los precipitados de los sobrenadantes obtenidos de los medios de cultivo. Dichos precipitados incluían la presencia de detritus celulares junto con células que mostraron clara morfología apoptótica.
- 65 6. Análisis de la morfología nuclear y de la apoptosis, que se realizó cada 24 horas durante 96 horas.

ES 2 376 564 A1

7. Las diferentes dosis se ensayaron por sextuplicado y cada experimento se realizó por triplicado. En cada caso se realizó de forma paralela una siembra control que se sometió a las mismas condiciones que las tratadas con anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3, excepto la exposición a dicho tratamiento.

5

En todas las líneas celulares de cáncer humano analizadas y sometidas a tratamiento con anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3 se observaron características típicas de apoptosis a las 24 horas. El número de células con características típicas de apoptosis se incrementó a lo largo del período de observación (de forma tiempo-dependiente). Estos resultados no se observaron en cultivos con siembras de control (que fueron sometidas a un procedimiento en idénticas condiciones a las anteriores, excepto la exposición al tratamiento con anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3).

10

Además, la inducción de apoptosis en las líneas celulares analizadas fue dosis-dependiente puesto que cantidades crecientes de anticuerpo anti-NK1, anti-NK2 o anti-NK3 incrementaron el número de células con características típicas de apoptosis.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

5 1. Utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento terapéutico del cáncer por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

10 2. Utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para la producción de apoptosis en las células tumorales, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

15 3. Utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para inducir modificaciones en la fisiología normal de la matriz estromal y las células estromales que rodean a los tumores, que conduzcan a la reducción del tamaño de los mismos, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

20 4. Utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para inducir modificaciones en las células propias de la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, que conduzcan a la reducción del tamaño tumoral, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

25 5. Utilización de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para inducir modificaciones en las células propias de la vascularización de las zonas tumorales y peritumorales, que conduzcan a la reducción del tamaño tumoral, por administración directa a un mamífero, incluyendo el hombre.

30 6. Uso, según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, donde el cáncer se selecciona del grupo que consiste en melanoma, carcinoma (sobre todo carcinoma de mama, carcinoma de pulmón, carcinomas del aparato digestivo, carcinoma de próstata, carcinoma de tiroides, carcinomas de cervix uterino, carcinoma de endometrio, carcinoma de ovario y carcinoma de vejiga de la orina), leucemias (especialmente Leucemia Linfoblástica humana), linfomas (especialmente el linfoma de Burkitt humano), neoplasias de extirpe glial, neoplasias de origen neuroectodérmico, sarcoma humano de Edwing, otros sarcomas (como rhabdomiosarcoma y osteosarcoma) y otras neoplasias como neuroblastoma, meduloblastoma y nefroblastoma.

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②① N.º solicitud: 201001062

②② Fecha de presentación de la solicitud: 12.08.2010

③② Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

⑤① Int. Cl.: **A61K39/395** (2006.01)
A61P35/00 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

| Categoría | ⑤⑥ Documentos citados | Reivindicaciones afectadas |
|-----------|--|----------------------------|
| A | US 20090215686 A1 (XU et al.) 27.08.2009, párrafos [0001]-[0016]. | 1-6 |
| A | C. PALMA et al. "Anti-tumour activity of tachykininKN1 receptor antagonists on human glioma U373MG xenograft" BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 82, 2000, páginas 480-487. Resumen y páginas 484 y 485. | 1-6 |
| A | WO 2009125039 A1 (UNIVERSIDAD DE BARCELONA, HOSPITAL CLINIC I PROVINCIAL DE BARCELONA, FUNDACIO CLINIC PER A LA RECERCA BIOMEDICA) 15.10.2009, página 2, líneas 25-33; página 4, líneas 18-20; página 6, líneas 16-20. | 1-6 |
| A | WO 03102136 A2 (HUMAN GENOME SCIENCES INC) 11.12.2003, párrafos [0006],[0007],[0018],[0021]. | 1-6 |

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
29.02.2012

Examinador
S. González Peñalba

Página
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

A61K, A61P

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, NLP, BIOSIS, MEDLINE, EMBASE, XPESP, EBI

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 29.02.2012

Declaración

| | | |
|---|----------------------|-----------|
| Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986) | Reivindicaciones 1-6 | SI |
| | Reivindicaciones | NO |
| Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986) | Reivindicaciones 1-6 | SI |
| | Reivindicaciones | NO |

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

Base de la Opinión.-

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

1. Documentos considerados.-

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

| Documento | Número Publicación o Identificación | Fecha Publicación |
|-----------|---|-------------------|
| D01 | US 20090215686 A1 (XU et al.) | 27.08.2009 |
| D02 | C. PALMA et al. "Anti-tumour activity of tachykininNK1 receptor antagonists on human glioma U373MG xenograft" BRITISH JOURNAL OF CANCER, vol. 82, 2000, páginas 480-487. Resumen y páginas 484 y 485. | |
| D03 | WO 2009125039 A1 (UNIVERSIDAD DE BARCELONA, HOSPITAL CLINIC I PROVINCIAL DE BARCELONA, FUNDACIO CLINIC PER A LA RECERCA BIOMEDICA) | 15.10.2009 |
| D04 | WO 03102136 A2 (HUMAN GENOME SCIENCES INC) | 11.12.2003 |

2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración

La presente solicitud de patente, tal y como ha sido redactada, hace referencia al uso de al menos un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3 o combinaciones de los mismos, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer (reivindicación 1), para la producción de apoptosis en las células tumorales (reivindicación 2) y para inducir modificaciones en la fisiología normal de la matriz estromal y las células estromales que rodean a los tumores, que conduzcan a la reducción del tamaño de los mismos (reivindicación 3), para inducir modificaciones en las células propias de la respuesta inflamatoria y/o inmunitaria, que conduzcan a la reducción del tamaño tumoral (reivindicación 4) y para inducir modificaciones en las células propias de la vascularización de las zonas tumorales y peritumorales que conduzcan a la reducción del tamaño tumoral (reivindicación 5). Y por último se reivindica el uso de dichos anticuerpos para el tratamiento de cáncer (reivindicación 6)

NOVEDAD Y ACTIVIDAD INVENTIVA LP ARTS. 6 y 8

El documento D01 trata de varios polinucleótidos y polipéptidos basados en NK1 para modular la actividad del receptor Met en una célula (véase párrafos [0008] - [0016]). Dicha actividad del receptor Met (receptor del factor de crecimiento hepatocito) se ha observado que se encuentra relacionada con el crecimiento de tumores, invasión de los mismos y metástasis (véase párrafo [0001]).

El documento D02 hace referencia a un antagonista del receptor NK1, denominado MEN 11467 para el control del crecimiento de gliomas. Dicho antagonista es un pseudopéptido que posee una gran afinidad por el receptor NK1 humano, y se utilizó para bloquear los receptores NK1 expresados en células U373MG (véase resumen y páginas 484 y 485).

El documento D03 se refiere al uso de un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra la sustancia P, para la fabricación de un medicamento terapéutico de cánceres que expresan NK1 y/o un miembro de la familia ErbB, el cual se administra directamente a un mamífero, incluyendo el hombre (véase página 2, líneas 25-33). La exposición a largo plazo de las BCCs al anticuerpo causa la inducción de apoptosis (véase página 4, líneas 18-20). El cáncer se selecciona de entre otros de glioma, astrocitoma, melanoma, etc (véase página 6, líneas 16-20).

El documento D04 describe anticuerpos (o variantes o fragmentos de los mismos) que se unen específicamente a polipéptidos de neuroquinina B; a composiciones que contienen dichos anticuerpos para el tratamiento de enfermedades tales como hipertensión, inflamación, asma etc, en animales y concretamente en humanos (véase párrafos [0006], [0007] y [0021]). Los anticuerpos descritos actúan como antagonistas de neuroquinina B, inhibiendo la unión de neuroquinina B al receptos de neuroquinina 3 (NK3R) y dichos anticuerpos inhiben también la unión de neuroquinina B al receptor 2 de neuroquinina (NK2R) (véase párrafo [0018]).

Por lo tanto, ninguno de los documentos citados, considerados solos o en combinación, revelan el uso de al menos un anticuerpo o un fragmento del mismo, específico contra los receptores celulares NK1, NK2 y/o NK3, o combinaciones de los mismos, para la fabricación de un medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento del cáncer. Ni tampoco en dichos documentos existen sugerencias que dirijan al experto en la materia hacia la invención definida en las reivindicaciones 1-6, por lo que el objeto de las reivindicaciones 1-6 cumple el requisito de novedad y actividad inventiva de acuerdo con los arts. 6 y 8 de la LP.