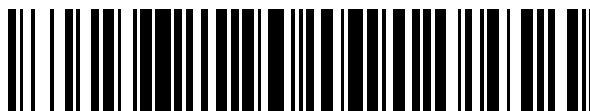


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 385 121**

51 Int. Cl.:
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08793787 .6**
96 Fecha de presentación: **07.08.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2186529**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **19.05.2010**

54 Título: **Composición farmacéutica sinérgica, útil para inhibir la neovascularización (angiogénesis) corneal y retinal, y de otros órganos, en un humano o animal**

30 Prioridad:
07.08.2007 AR P070103482

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.07.2012

73 Titular/es:
**Asociación Civil De Estudios Superiores
Av. Juan de Garay No. 125
Ciudad de Buenos Aires C1063ABB, AR y
Gallo Barraco, Juan Eduardo María**

72 Inventor/es:
GALLO BARRACO, Juan Eduardo María

74 Agente/Representante:
Tomas Gil, Tesifonte Enrique

ES 2 385 121 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

Composición farmacéutica sinérgica, útil para inhibir la neovascularización (angiogénesis) corneal y retinal, y de otros órganos, en un humano o animal

5

CAMPO DE LA INVENCION

[0001] La Suramina (suramin, suramine) es una droga conocida desde hace muchos años para el tratamiento de enfermedades causadas por nematodos y protozoos. También se han descrito sus propiedades como agente antineoplásico a través de varios mecanismos: inhibición de la angiogénesis de tumores, incremento de la sensibilidad celular a sustancias citotóxicas (quimioterapia) y acción citotóxica por sí misma.

10

[0002] Químicamente, la Suramina puede ser denominada como ácido 8-[[4-metil-3-[[3-[[3-[[2-metil-5-[(4,6,8-trisulfonaftalen-1-il)carbamoil]]fenil]carbamoil]]fenil]carbamoil]amino]benzoil]amino]-naftalen-1,3,5-trisulfónico, de fórmula empírica es C₅₁H₄₀N₆O₂₃S₆ y número CAS 145-63-1.

15

[0003] El Bevacizumab, una sustancia biológicamente activa conocida por su efecto anti-VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), inhibe la angiogénesis. Se utiliza en el cáncer de colon por su efecto antiangiogénico disminuyendo el crecimiento tumoral y en el tratamiento de enfermedades oftalmológicas que desarrollan neovascularización, como la retinopatía diabética, la degeneración macular relacionada con la edad tipo exudativa y otras.

20

[0004] Recientemente, el Bevacizumab se ha utilizado en oftalmología como un agente intravítreo en el tratamiento de las enfermedades proliferativas (neovascularización) de los ojos. Además, se ha aprobado como nueva indicación para el tratamiento de cáncer de mama en varios países.

25

[0005] De manera inesperada y sorprendente, se ha encontrado que una nueva composición farmacéutica que comprende Suramina y Bevacizumab (denominada en adelante suramab) administrada en una dosis relativamente baja posee gran efecto antiangiogénico, de carácter sinérgico, con mayor intensidad y duración que el efecto producido por una monodosis de Bevacizumab o de Suramina.

30

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

ASPECTOS MEDICOS

A) Angiogénesis corneal

[0006] El objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprenda Suramina, un antagonista purinérgico no específico, y Bevacizumab, una sustancia anti-VEGF, en el desarrollo de la angiogénesis corneal.

35

[0007] Para tales propósitos, se utilizó un método bien conocido para inducir neovascularización en la córnea. La aparición de vasos de neoformación en la córnea fue documentada a través de una cámara digital a lo largo de un período de 35 días. El efecto de suramab (Suramina + Bevacizumab) en animales fue comparado con el de otros tres grupos de animales tratados con Bevacizumab, tratados con Suramina y sin ningún tipo de tratamiento (grupo de control).

40

[0008] El suramab administrado por vía endovenosa disminuyó marcadamente el desarrollo de neovasos en la córnea y tuvo un efecto significativamente mayor y duradero que el de los otros grupos animales durante los 35 días de seguimiento. Los resultados han revelado que el suramab tiene un marcado efecto antiangiogénico, capaz de detener la neovascularización corneal y en otros lugares del organismo, constituyéndose en un nuevo agente farmacológico para el tratamiento antiangiogénico.

45

50

B) Angiogénesis tumoral

[0009] Otro objetivo de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica que comprenda Suramina, un antagonista purinérgico no específico, y Bevacizumab, una sustancia anti-VEGF, en el desarrollo de la angiogénesis tumoral y en la supervivencia del animal de experimentación.

55

[0010] Para tal fin, se utilizó un modelo animal bien conocido. Brevemente, se inocularon células CT26 (adenocarcinoma de colon), en forma subcutánea, en la región dorso-lateral de las ratas. Al 7.º día de inoculación, se formaron 4 grupos de animales que recibieron por vía intravenosa distintos tratamientos: suramab, Bevacizumab, Suramina, solución fisiológica (control). Se midieron los tumores tres veces por semana, se calculó el volumen tumoral siguiendo una fórmula conocida y se evaluó la supervivencia de los animales. Los grupos tratados fueron comparados con el grupo de control.

60

[0011] Sólo el grupo tratado con suramab presenta una disminución estadísticamente significativa del volumen tumoral a los 31 días respecto al grupo de control. Además, es el grupo que posee el mayor porcentaje de supervivencia a los 35 días.

5 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS FIGURAS

[0012] La Figura 1 ilustra el desarrollo de neovasos corneales 21 días después de la lesión: A) control; B) Bevacizumab; C) Suramina; D) suramab.

La Figura 2 muestra la evolución de los neovasos (índice de neovascularización) en función del transcurso del tiempo (días) del ensayo para los cuatro grupos de animales.

La Figura 3 ilustra el porcentaje de supervivencia en el transcurso del tiempo (días) del ensayo del modelo de angiogénesis oncológica para los cuatro grupos de animales hasta los 35 días.

La Figura 4 muestra el volumen tumoral (promedio) en el transcurso del tiempo (días) del ensayo del modelo de angiogénesis oncológica para los cuatro grupos de animales hasta los 31 días.

La Figura 5 ilustra el volumen tumoral (promedio) a los 31 días del ensayo del modelo de angiogénesis oncológica para los cuatro grupos de animales.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

I. ANGIOGENESIS

20 I.1.- Introducción

[0013] La córnea, ubicada en la parte anterior del ojo, es un tejido transparente y avascular. Algunas patologías oculares pueden causar pérdida de su avascularidad y transparencia, produciendo disminución o pérdida de la visión. Se estima que en los Estados Unidos un millón y medio de pacientes desarrollan neovascularización corneal, algunos de ellos con pérdida de visión, llamados pacientes ciegos por córnea (Brodovsky SC, McCarty CA, Snibson G, Loughnan M, Sullivan L, Daniell M, Taylor HR. Management of alkali burns: an 11-year retrospective review. *Ophthalmology*. 2000; 107: 1829-35). Las causas más frecuentes de la invasión de vasos en la córnea (neovascularización corneal) son: infecciones oculares, como el virus herpes simple, secuelas de enfermedades, como el Pénfigo y el Síndrome de Steven Johnson, Pterigion gigante y, especialmente, las quemaduras con álcali. Las patologías mencionadas suelen cursar con daño severo o destrucción de las células troncales del limbo corneal (stem cells o células madre), las cuales tendrían la función de no permitir el ingreso de vasos sanguíneos a través de la periferia corneal (Dua HS, Joseph A, Shanmuganathan VA, Jones RE. Stem cell differentiation and the effects of deficiency. *Eye* 2003;17:877-85).

[0014] El manejo de la neovascularización corneal continúa siendo complejo, aunque se han logrado avances en el tratamiento de esta patología. Casos que se podrían beneficiar de un trasplante de córnea convencional tienen mal pronóstico debido a la frecuente recurrencia de la neovascularización. La experiencia demuestra que es necesario disminuir significativamente la neovascularización antes de realizar el trasplante de córnea convencional (Garg P, Krishna PV, Stratis AK, Gopinathan U. The value of corneal transplantation in reducing blindness. *Eye*. 2005;19:1106-14).

[0015] Nuevos tratamientos, como por ejemplo el trasplante de células madre del limbo corneal se encuentran en una etapa inicial de desarrollo. Sin embargo, en los pocos casos reportados no es raro encontrar recurrencia de la neovascularización corneal.

[0016] Los receptores de la superficie celular para nucleótidos extracelulares se denominan receptores P2. Estos son activados por nucleótidos como las purinas y/o pirimidinas. Los receptores P2 se dividen en dos grandes grupos: P2X y P2Y. Los receptores P2X están involucrados en el control del flujo de iones en la célula en respuesta al ATP (adenosin trifosfato). Los receptores P2X participan en la neurotransmisión rápida y se encuentran en gran cantidad en los tejidos con función excitatoria. Los subtipos P2X1, P2X2, P2X3, etc., se encuentran descritos en la bibliografía. Los receptores P2Y pertenecen a la familia de receptores acoplados a la Proteína G, y también se han encontrado varios tipos como P2Y1, P2Y2, etc. (Abbracchio MP, Burnstock G. Purinoceptors: are there families of P2X and P2Y purinoceptors? *Pharmacol Ther* 1994;64:445-75).

[0017] Los receptores P2 se encuentran presentes en las células gliales, en la retina y también en la córnea (Lazarowski E, Boucher R, Harden T. Mechanisms of release of nucleotides and integration of their action as P2X- and P2Y-receptor activating molecules. *Mol Pharmacol* 2003; 64 (4):785-95; Fries JE, Goczalik IM, Wheeler-Schilling TH, Kohler K, Guenther E, Wolf S, Wiedeman P, Bringmann A, Reichenbach A, Francke M, Pannicke T. Identification of P2Y receptor subtypes in human Muller glial cells by physiology, single cell RT-PCR, and immunohistochemistry. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005 Aug; 46 (8): 3000-7; Wang L, Karlsson L, Moses S, Hultgardh-Nilsson A, Andersson M, Bornha C, Gudbjartsson T, Jern S, Erlinge D. P2 receptor expression profiles in human vascular smooth muscle and endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002 Dec; 40 (6): 841-53; Li Y, Holtzclaw LA, Russell JT. Muller cell Ca²⁺ waves evoked by purinergic receptor agonists in slices of rat retina. *J Neurophysiol* 2001 Feb; 85 (2): 986-94; Fujihara T, Murakami T, Fujita H, Nakamura M, Nakata K. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye

5 model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Jan; 42 (1): 96-100). Se ha descubierto que las enfermedades de la retina se activan con una mayor inmunorreactividad (Morigiwa K, Quan M, Murakami M, Yamashita M, Fukuda Y. P2 Purinoceptor expression and functional changes of hypoxia-activated cultured rat retinal microglia. *Neurosci Lett.* 2000;282:153-6). Estudios experimentales en animales sobre el desprendimiento de retina demostraron una inmunorreactividad positiva de los receptores P2Y2 especialmente en las capas internas de la retina, lográndose una clara identificación de ellos en células gliales, como astrocitos y células de Muller. Sin embargo, después de 7 días de evolución del desprendimiento de retina ya se expresaba el receptor P2Y2 en otras partes de la retina (Uhlmann S, Bringmann A, Uckermann O, Pannicke T, Weick M, Ulbricht E, Goczałik I, Reichenbach A, Wiedemann P, Francke M. Early glial cell reactivity in experimental retinal detachment: effect of suramin. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2003 Sep; 44 (9): 4114-22).

10 [0018] La Suramina actúa bloqueando los receptores purinérgicos. Sin embargo, también se ha descubierto que bloquea otros receptores de moléculas angiogénicas, como el FGF y el VEGF (Kathir KM, Kumar TK, Yu C. Understanding the mechanism of the antimitogenic activity of suramin. *Biochemistry.* 2006 Jan 24; 45 (3): 899-906).

15 [0019] Es ampliamente conocido el rol que cumple el VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular) en la angiogénesis en distintos lugares del cuerpo humano. El Bevacizumab (rhuMab VEGF) es un anticuerpo monoclonal, humanizado y recombinante, que se une al VEGF-A impidiendo su acción en el receptor correspondiente y, de esta manera, inhibe la angiogénesis (Presta L, Chen H, O Connor S, et al. Humanization of an antivascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and other disorders. *Cancer Res* 1997; 57: 4593-4599). Se utiliza en la quimioterapia combinada para el tratamiento del cáncer de colon, impidiendo el crecimiento tumoral por su efecto angiostático (Saunders M, Iveson T. Management of advanced colorectal cancer: state of the art. *BMJ* 2006, 95:131-38). Con esta indicación está autorizado en nuestro país (1996 – 2006, Productos Roche S.A.Q. e I., Buenos Aires). En oftalmología se utiliza actualmente para el tratamiento de enfermedades que cursan con neovascularización retinal y son causas frecuentes de ceguera, como la degeneración macular relacionada con la edad de tipo exudativa y la retinopatía diabética. Además, recientes investigaciones señalan la posibilidad de uso para la neovascularización corneal (Bock F, Onderka J, Dietrich T, Bachmann B, Kruse F, Paschke M, Zahn G, Cursiefen C. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48: 2545-2552; DeStafeno J, Kim T. Topical bevacizumab therapy for corneal neovascularization. *Arch Ophthalmol* 2007; 125: 834-836).

20 [0020] A las publicaciones de otros investigadores se suman los trabajos realizados en nuestra institución según los cuales las monodosis de Bevacizumab y las monodosis de Suramina reducen la neovascularización corneal y retinal (Gallo JE, Sarman S, Mancini J, van der Ploeg I, Croxatto JO, Kvant A. Suramin Inhibits Experimental Retinal Neovascularization. Possible Role of Purinergic P2 Receptors. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2006 47: E-Abstract 3224, Lopez E, Croxatto JO, Kvant A, Gallo JE. Effect of Bevacizumab (Avastin) and Suramin in a Rabbit Model of Corneal Neovascularization. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007 48: E-Abstract 1717). Basándonos en estos hechos nos propusimos evaluar la eficacia del suramab, (una composición farmacéutica que comprende Suramina y Bevacizumab) para inhibir la angiogénesis corneal en un modelo animal clásico de neovascularización corneal (Fujihara T, Murakami T, Fujita H, Nakamura M, Nakata K. Improvement of corneal barrier function by the P2Y(2) agonist INS365 in a rat dry eye model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2001 Jan; 42 (1): 96-100; Klepeis VE, Weinger I, Kaczmarek E, Trinkaus-Randall V. P2Y receptors play a critical role in epithelial cell communication and migration. *J Cell Biochem.* 2004 Dec 15; 93 (6): 1115-33; Cursiefen C, Cao J, Chen L et al. Inhibition of hem and lymphangiogenesis after normal-risk corneal transplantation by neutralising VEGF promotes graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004; 45: 2666-2673) y la angiogénesis asociada al cáncer en un modelo animal utilizando células de adenocarcinoma de colon.

45 II.2.- Ejemplos

II.2.1.- Material y Métodos

Modelo de Neovascularización corneal

50 [0021] Luego de anestesiar un conejo blanco de raza neocelandesa de 3 Kg. con una inyección intramuscular de midazolam y clorhidrato de Ketamina, se realizó la instilación de proparacaína tópica (Anestalcon, Alcon, Argentina) en el ojo y se colocó un blefarostato en el ojo derecho. Durante 20 segundos se embebieron discos de papel de filtro Whatman de 7 mm de diámetro en solución de NaOH 1N. Se colocó con una pinza el disco de papel sobre la parte central de la córnea dejándolo por 2 minutos. Inmediatamente después se lavó la zona lesionada con 15 ml de solución fisiológica salina (ClNa, 0,9 %) durante un minuto. El mismo procedimiento se llevó a cabo en 12 conejos del mismo color, raza y peso.

Resultado de la neovascularización (calificación)

60 [0022] Se cuantificó la formación de neovasos dándole un valor de 0 a 4 a cada cuadrante según el grado de crecimiento centripeto del vaso más largo (en incrementos de 1 mm, es decir, 0 = 0 mm; 1 = igual o menor de 1 mm; 2 = mayor de 1 y hasta 2 mm; 3 = mayor de 2 y hasta 3 mm; 4 = mayor de 3 mm). La suma de los cuatro cuadrantes brindó el índice de neovascularización (INV) de ese ojo. La medición de los vasos se realizó sobre imágenes digitales tomadas

con la cámara Nikon Coolpix 5700 Digital Camera (Nikon, Tokio, Japón) a los 9, 15, 21 y 35 días después de la lesión (Zheng M, Schwarz MA, Lee S, Kumaraguru U, Rouse BT. Control of stromal keratitis by inhibition of neovascularization. Am J Pathol. 2001 Sep; 159 (3): 1021-9).

5 **Administración de monodosis de Suramina, Bevacizumab y suramab**

[0023] Treinta minutos después de realizar la lesión corneal se inyectó a través de una bomba de infusión endovenosa 20 mg/kg de Suramina hexasódica (Biomol International, PA, EE.UU.) disuelta en 5 ml de solución fisiológica salina (ClNa, 0,9 %) durante 20 minutos. El Bevacizumab (Roche, Buenos Aires, Argentina) se administró de igual manera con una dosis de 5 mg/kg disuelta en 5 ml de solución fisiológica salina (ClNa, 0,9 %). Una solución de suramab, compuesta por Bevacizumab (3 mg/kg) y Suramina hexasódica (10 mg/kg) en 5 ml de solución fisiológica salina (ClNa, 0,9 %) se administró por vía endovenosa de igual modo. Quedaron así constituidos cuatro grupos de tres animales cada uno: un grupo tratado con Suramina, un grupo tratado con Bevacizumab, un grupo tratado con suramab y el grupo restante sin tratamiento (grupo de control).

[0024] La solución de suramab se obtuvo mediante el siguiente procedimiento:
Se disolvieron 30 mg de Suramina hexasódica en 4,64 ml de solución fisiológica salina (NaCl, 0,9 %) mediante agitación continua durante 4 minutos.

Se agregaron 9 mg de Bevacizumab (0,36 ml de una ampolla de Avastin de 100 mg/4 ml, Roche, Buenos Aires, Argentina) a la solución de Suramina preparada previamente, y los 5 ml de la mezcla resultante se conservaron en refrigeración a 4° C hasta el momento de su aplicación.

[0025] El suramab resultante se inyectó con catéter mariposa canalizando la vena auricular y mediante perfusión endovenosa lenta durante 15 a 20 minutos.

25 **Control postoperatorio**

[0026] A las 24 h de efectuar la lesión, se realizó el primer examen clínico y luego se continuó cada tres días. Se llevó a cabo con un microscopio operador o una lupa para cirugías, y se tomaron fotos con una cámara digital Nikon Coolpix 5700. El registro del INV se realizó a los 9, 15, 21 y 35 días en todos los animales. El INV promedio de cada grupo se utilizó para realizar el análisis comparativo.

Modelo de angiogénesis oncológica

[0027] Se inocularon 5 x 10⁵ células CT26 (adenocarcinoma de colon), en forma subcutánea, en la región dorso-lateral de ratas Balb/c. Al 7.º día de inoculación, se formaron 4 grupos de animales que recibieron por vía intravenosa (en la vena de la cola) distintos tratamientos.

40 **Administración de monodosis de Suramina, Bevacizumab y suramab**

[0028] a. Grupo Bevacizumab: (n =10), 5 mg/kg (1 rata = 30 g, aprox. 0,15 mg por rata) en 100 µl ml de solución fisiológica (SF) con infusión lenta.
b. Grupo Suramina: (n=10) 20 mg/kg (1 rata =30 g, aprox. 0,6 mg por rata) en 100 µl de SF con infusión lenta.
c. Grupo Suramab: (n=10). Suramina 20 mg/kg + Bevacizumab 5 mg/kg (aprox. 0,6 g de suramina y 0,15 mg de Bevacizumab por rata) en 100 µl de SF con infusión lenta.
d. Grupo de control: (n= 7). SF 100 µl con infusión lenta.

Control postoperatorio

[0029] Se midieron los tumores tres veces por semana. Para calcular el volumen tumoral se utilizó la siguiente fórmula: (diámetro mayor + el cuadrado del diámetro menor)/2. Los animales con tumores de volumen mayor o igual a 8000 mm³ fueron sacrificados.

[0030] La supervivencia se consideró hasta el día 35 posterior a la inoculación del tumor.

55 **2.2.2.- Resultados**

Neovascularización corneal

[0031] Los resultados obtenidos para los cuatro grupos de animales se muestran en la siguiente tabla:

60

TABLA 1 - PROMEDIOS DE ÍNDICES DE NEOVASCULARIZACION

	DÍA 9	DÍA 15	DÍA 21	DÍA 35
BEVACIZUMAB	1	4	5	12
SURAMIN	4	6	7	7
SURAMAB	0	0,7	1,3	1,7
CONTROL	7	11	13	15

[0032] Bevacizumab, Suramina y suramab tuvieron un efecto inhibitor de la neovascularización a lo largo de los 35 días.

5 [0033] Sin embargo, como puede observarse claramente en la Tabla 1 previa así como en las Figuras 1 y 2, la aplicación de suramab tuvo un efecto significativamente mayor y de naturaleza sinérgica en el grado de inhibición de neovasos durante los 35 días de seguimiento.

10 [0034] De acuerdo con los resultados experimentales precedentes, la invención propuesta se refiere a una composición farmacéutica sinérgica, útil para inhibir la neovascularización (angiogénesis) corneal y retinal, y de otros órganos, en un humano o animal, que comprende, en un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable: de 60 a 90 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y de 40 a 10 % en peso de Bevacizumab; en donde dichos porcentajes son con respecto a la suma de los pesos de ambos principios activos.

15 [0035] Más preferentemente, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica sinérgica, útil para inhibir la neovascularización corneal y retinal, y de otros órganos, en un humano o animal, que comprende, en un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable: aproximadamente 75 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y 20 aproximadamente 25 % en peso de Bevacizumab; en donde dichos porcentajes son con respecto a la suma de los pesos de ambos principios activos.

25 [0036] De manera aun más preferencial, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica sinérgica inyectable, útil para inhibir la neovascularización corneal y retinal, y de otros órganos, en un humano o animal, que comprende: aproximadamente 0,18 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y aproximadamente 0,06 % en peso de Bevacizumab; siendo el resto un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable, en donde los porcentajes son con respecto al peso total de la composición farmacéutica.

30 [0037] Preferentemente, en estas composiciones farmacéuticas sinérgicas inyectables, el 0,18 % en peso de Suramina se encuentra bajo la forma de su sal hexasódica.

35 [0038] Finalmente, se considera que las composiciones de la presente invención pueden estar bajo la forma farmacéutica de una composición inyectable por vía endovenosa, intravítrea o subconjuntival, o para la administración tópica.

Angiogénesis (neovascularización) asociada a enfermedades oncológicas

40 [0039] Como es sabido, el crecimiento del volumen tumoral está relacionado con la mayor o menor vascularización del tumor, a través de la cual se nutren las células tumorales. En nuestro ensayo experimental, Bevacizumab, Suramina y suramab tuvieron un efecto inhibitor de la neovascularización (angiogénesis) tumoral a lo largo de los 31 días, manifestado a través de una reducción del volumen tumoral comparado con el grupo de control. Sin embargo, sólo el suramab produjo una reducción estadísticamente significativa.

45 [0040] Además es importante destacar que el porcentaje de supervivencia a los 35 días fue mayor en el grupo de animales tratado con suramab.

50 [0041] Como puede observarse en las Figuras 3 a 5, la aplicación de suramab tuvo un efecto significativamente mayor y de naturaleza sinérgica en el grado de crecimiento del volumen tumoral (por inhibición de neovasos) a los 31 días de seguimiento (véanse las Figuras 4, 5) y un mayor porcentaje de supervivencia a los 35 días (véase la Figura 3).

2.2.3.- Discusión y conclusiones

55 [0042] La presente invención demuestra que suramab es un agente probadamente eficaz para reducir la angiogénesis corneal en un modelo clásico de neovascularización corneal (Bocci G, Danesi R, Benelli U, Innocenti F, Di Paolo A, Fogli S, Del Taca M. Inhibitory effect of suramin in rat models of angiogenesis in vitro and in vivo. Cancer Chemother Pharmacol 1999; 43 (3): 205-12; Zheng M, Schwarz MA, Lee S, Kumaraguru U, Rouse BT. Control of stromal keratitis by inhibition of neovascularization. Am J Pathol. 2001 Sep; 159 (3): 1021-9). El grado de inhibición de la angiogénesis es

significativamente mayor con suramab que con el tratamiento único de Bevacizumab o de Suramina. La marcada diferencia se mantuvo durante todo el período de seguimiento.

[0043] La dosis administrada de cada una de las moléculas componentes de suramab (10 mg/kg de Suramina + 3 mg/kg de Bevacizumab) es menor a la administrada en forma única de Suramina (20 mg/kg) y Bevacizumab (5 mg/kg). La mitad de las dosis, administradas de manera combinada, muestran un mayor efecto y duración. Por lo tanto, hemos podido observar un efecto sinérgico de los componentes de suramab. Parece razonable pensar que esta sinergia se basa en el mecanismo de acción diferente de la Suramina (bloqueando receptores celulares) y el Bevacizumab (uniéndose el péptido circulante).

[0044] Hemos encontrado un efecto sinérgico similar en los ensayos realizados con un modelo animal de angiogénesis tumoral utilizando una concentración distinta de suramab. La dosis administrada de cada una de las moléculas componentes de suramab (20 mg/kg de Suramina + 5 mg/kg de Bevacizumab) es igual a la administrada en forma única de Suramina (20 mg/kg) y Bevacizumab (5 mg/kg). Sin embargo, una nueva dosis, administrada de manera combinada, muestra un mayor efecto y duración.

[0045] Las dosis de Suramina utilizadas para el desarrollo de suramab han sido señaladas como no tóxicas para el organismo humano (Villalona-Calero MA, Wientjes MG, Otterson GA, Kanter S, Young D, Murgo AJ, Fisher B, DeHoff C, Chen D, Yeh TK, Song S, Grever M, Au JL. Phase I Study of Low Dose suramin as a chemosensitizer in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2003; Aug 15; 9 (9): 3303-11) mientras que las dosis de Bevacizumab utilizadas para el mismo fin son las recomendadas para pacientes con cáncer de colon (1996 – 2006, Productos Roche S.A.Q. e I., Buenos Aires).

[0046] En consecuencia, suramab podría constituirse en una nueva alternativa para el tratamiento de enfermedades oncológicas, en un momento en el cual se discuten distintas estrategias para el tratamiento de estas enfermedades (Schmoll H, Sargent D. Single agent fluorouracil for first-line treatment of advanced colorectal cancer as standard? *Lancet* 2007, 370: 105-107; Koopman M, Antonini N, Douma J, Wals J et al. Sequential versus combination chemotherapy with capecitabine, irinotecan, and oxaliplatin in advanced colorectal cancer (CAIRO): a phase III randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 135-42; Ramaswamy S. Rational design of cancer-drug combinations. *NEJM* 2007; 357 (3): 299-300; Seymour M, Maughan T, Ledermann J et al. Different strategies of sequential and combination chemotherapy for patients with poor prognosis advanced colorectal cancer (MR FOCUS): a randomised controlled trial. *Lancet* 2007; 370: 143-52).

[0047] La angiogénesis patológica retinal, como ocurre en la retinopatía de un bebé prematuro, es una causa importante de ceguera en niños nacidos prematuramente (Gallo JE, Lennerstrand G. A population-based study of ocular abnormalities in premature children aged 5 to 10 years. *Am J Ophthalmol* 1991 May 15; 111 (5): 539-47), dando inicio al desarrollo de la proliferación vítreoretinal que habitualmente conduce al desprendimiento de retina y posterior ceguera. Un mecanismo similar de proliferación vítreoretinal ocurre en la etapa final de la retinopatía diabética. Estas enfermedades, así como aquellas que cursan con neovascularización corneal causando "ceguera por córnea", podrían beneficiarse del tratamiento con suramab.

[0048] El tratamiento actual del edema macular diabético, de la retinopatía diabética proliferativa (con neovasos) y de la degeneración macular de tipo exudativo, es a través de una inyección intravítrea (intravitreal) de una droga antiangiogénica, que es necesario repetir con frecuencia en la mayoría de los casos (R. Lazic, N. Gabric. Verteporfin Therapy and Intravitreal Bevacizumab Combined and Alone in Choroidal Neovascularization due to Age-Related Macular Degeneration. *Ophthalmology* 2007, 114: (6), 1179-1185, Augustin AJ, Puls S, Offermann I. Triple therapy for choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration: verteporfin PDT, bevacizumab, and dexamethasone. *Retina* 2007; 27 (2):133-40, Yanyali A, Aytug B, Horozoglu F, Nohutcu A. Bevacizumab (Avastin) for diabetic macular edema in previously vitrectomized eyes. *Am J Ophthalmol* 2007; 144 (1):124-6, Arevalo F, Fromow-Guerra J, Quiroz-Mercado H, Sanchez J, Wu L, Maia M, Berrocal M, Solis-Vivanco A, Farah M, and Pan-American Collaborative Retina Study Group. Primary Intravitreal Bevacizumab (Avastin) for Diabetic Macular Edema. Results from the Pan-American Collaborative Retina Study Group at 6-Month Follow-up. *Ophthalmology* 2007, 114 (4) 743-750, Rabena M, Pieramici D, Castellarin A, Nasir M, Avery R. Intravitreal bevacizumab (Avastin) in the treatment of macular edema secondary to branch retinal vein occlusion. *Retina* 2007; 27 (4): 419-425). Considerando el mayor efecto y duración de suramab, parecería lógico esperar una reducción de la frecuencia de estas inyecciones, con la ventaja de disminuir el riesgo de contraer una infección intraocular severa (endofthalmitis) y de minimizar la repetición de un procedimiento invasivo en el paciente.

[0049] Recientes trabajos sobre neovascularización corneal muestran como el Bevacizumab (Avastin) administrado por vía parenteral y subconjuntival disminuyó marcadamente la presencia de neovasos en la córnea (Bock F, Onderka J, Dietrich T, Bachmann B, Kruse F, Paschke M, Zahn G, Cursiefen C. Bevacizumab as a potent inhibitor of inflammatory corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48: 2545-2552; M Erdurmus and Totan Y. Subconjunctival bevacizumab for corneal neovascularization. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; doi

10.1007/s00417-007-0587-4). Se han informado resultados todavía muy preliminares en la administración tópica (DeStafeno J, Kim T. Topical bevacizumab therapy for corneal neovascularization. Arch Ophthalmol 2007; 125: 834-836).

- 5 [0050] La investigación llevada a cabo tuvo como objetivo evaluar el efecto de suramab (composición farmacéutica que comprende Suramina y Bevacizumab) para inhibir la neovascularización corneal y la asociada a un cáncer en dos modelos animales. Los resultados han sido ciertamente muy favorables.

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica sinérgica, útil para inhibir la neovascularización (angiogénesis) corneal y retinal, en un humano o animal, **caracterizada porque** comprende, en un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable:
5 60 a 90 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y
40 a 10 % en peso de Bevacizumab;
en donde dichos porcentajes son con respecto a la suma de los pesos de ambos principios activos.
2. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** comprende, en un
10 vehículo o portador farmacéuticamente aceptable:
aproximadamente 75 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y
aproximadamente 25 % en peso de Bevacizumab;
en donde dichos porcentajes son con respecto a la suma de los pesos de ambos principios activos.
- 15 3. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** comprende:
aproximadamente 0,18 % en peso de Suramina, o el equivalente de una de sus sales farmacéuticamente aceptables; y
aproximadamente 0,06 % en peso de Bevacizumab;
siendo el resto un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable, en donde los porcentajes están dados con
20 respecto al peso total de la composición farmacéutica.
4. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** comprende:
aproximadamente 0,18 % en peso de Suramina bajo la forma de su sal hexa-sódica; y
aproximadamente 0,06 % en peso de Bevacizumab;
siendo el resto un vehículo o portador farmacéuticamente aceptable, en donde los porcentajes están dados con
25 respecto al peso total de la composición farmacéutica.
5. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizada porque** es una composición
inyectable por vía endovenosa, intravítrea o subconjuntival, o es para la administración tópica.

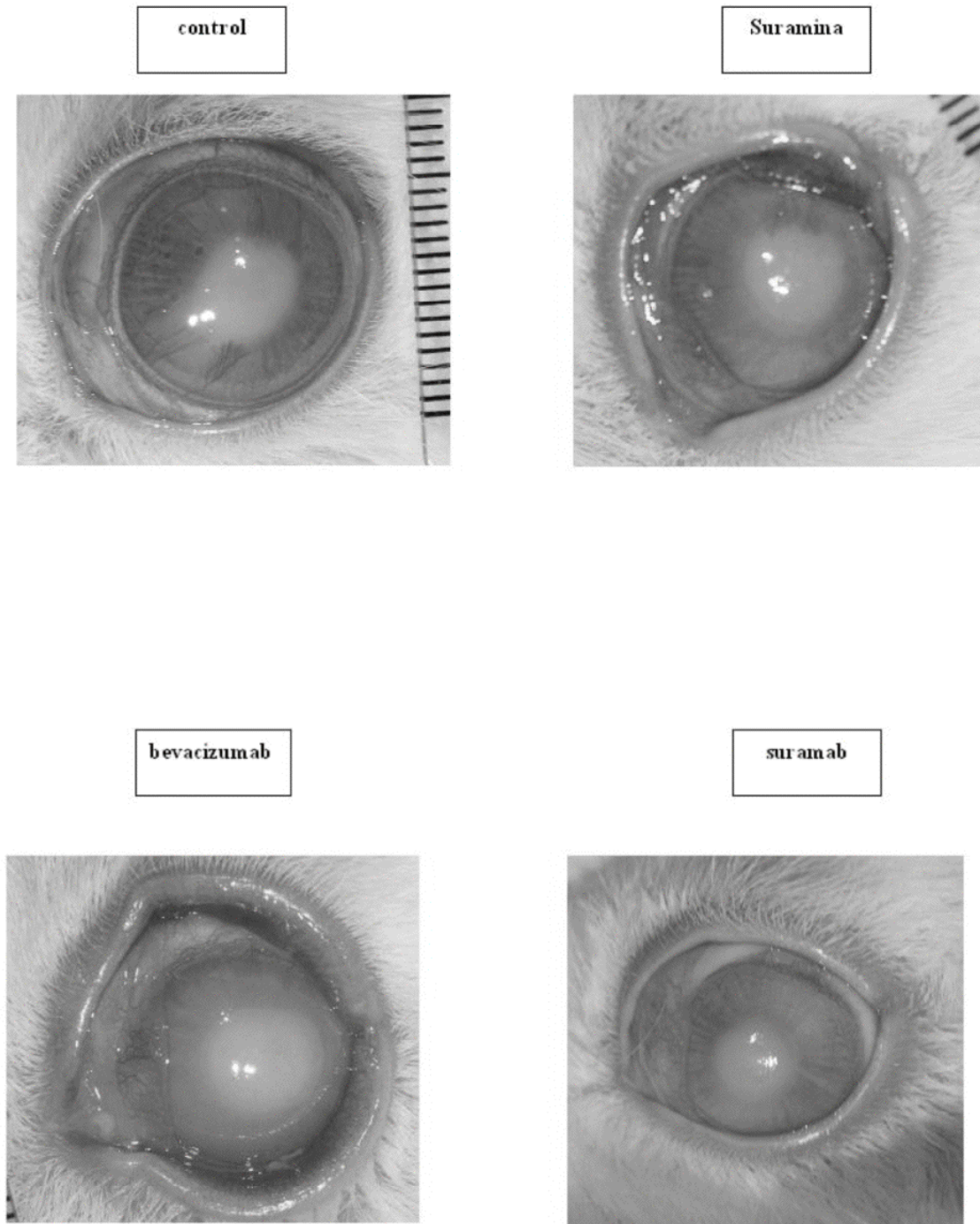


FIG. 1

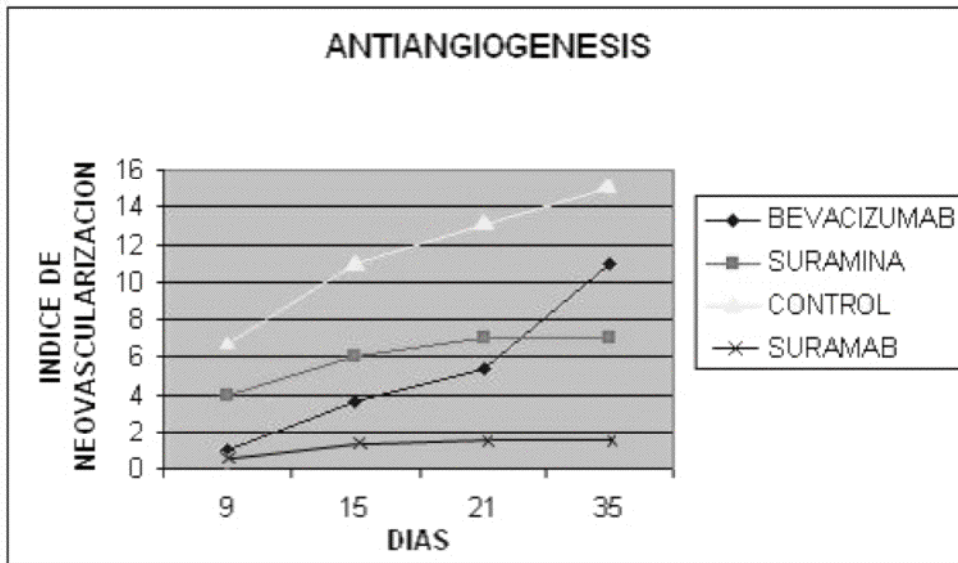


FIG. 2

Supervivencia de datos 1: Proporciones de supervivencia

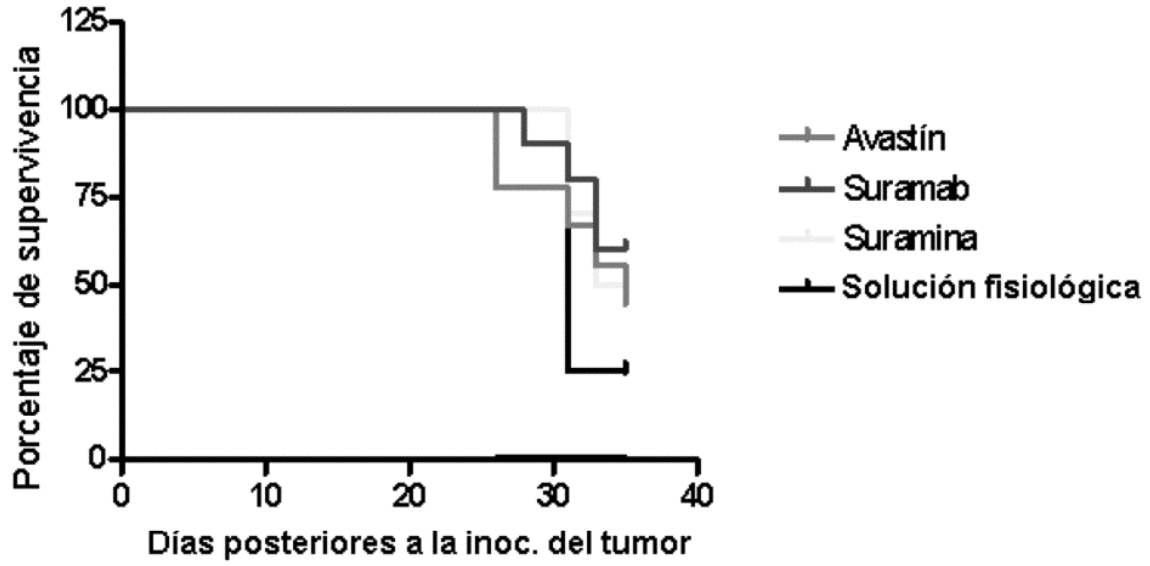
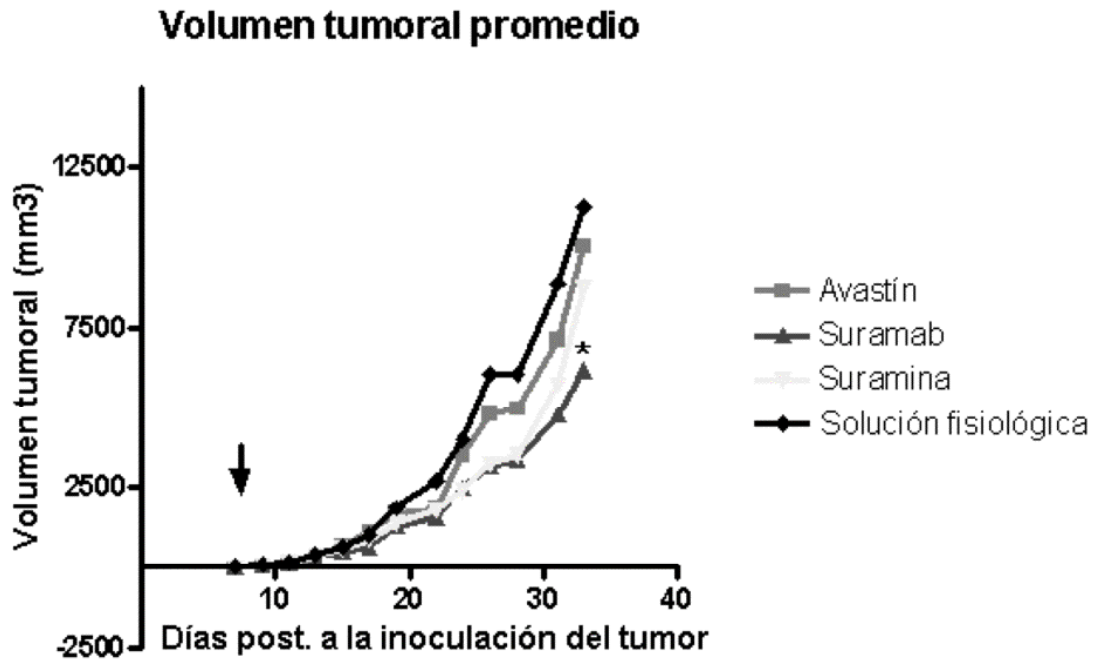


FIG. 3

FIG. 4

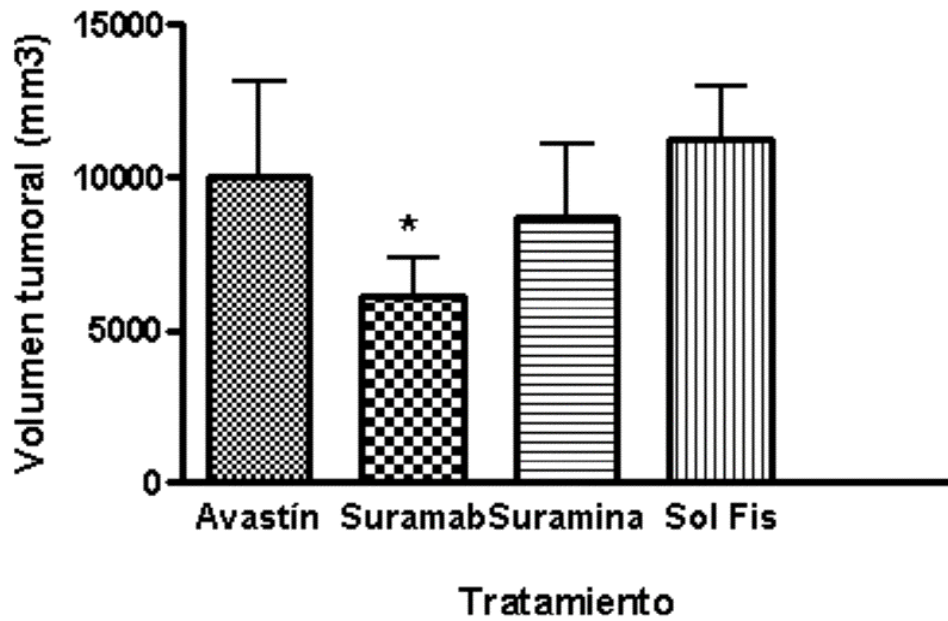


↓ Inicio del tratamiento (día 7 post. a la inoculación del tumor)

* Diferencia respecto al grupo de solución fisiológica (P menor de 0,05)

FIG. 5

Día 31



* Diferencia respecto al grupo de control (solución fisiológica) con P menor de 0,05