

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 474**

51 Int. Cl.:
A61K 47/48 (2006.01)
A61K 38/19 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **09745728 .7**
96 Fecha de presentación: **12.05.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2285416**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.02.2011**

54 Título: **Conjugados para el tratamiento del mesotelioma**

30 Prioridad:
13.05.2008 EP 08008872

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.10.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.10.2012

73 Titular/es:
MOLMED SPA (100.0%)
Via Olgettina 58
20132 Milan, IT

72 Inventor/es:
BORDIGNON, CLAUDIO y
LAMBIASE, ANTONIO

74 Agente/Representante:
DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 389 474 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

Conjugados para el tratamiento del mesotelioma

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a terapia anticáncer, particularmente a conjugados de citocinas y péptidos dirigidos para uso en el tratamiento del Mesotelioma Pleural Maligno (MPM), donde el péptido dirigido es un péptido que contiene un motivo NGR, isoDGR o RGD y donde la citocina es TNF α o TNF β .

Antecedentes

10 El mesotelioma pleural maligno (MPM) es una rara y agresiva neoplasia que surge primariamente de las células serosas superficiales de las cavidades pleurales, en general asociada con un mal pronóstico. La incidencia de MPM está aumentando en todo el mundo, y se espera que se eleve en los próximos 10-20 años debido a la exposición cada vez mayor al amianto en los últimos años.

15 No existe atención para el tratamiento de MPM, y solamente una minoría de los pacientes son aptos para recibir una terapia potencialmente curativa. Las complicaciones de la quimioterapia citotóxica influyen en gran medida en las decisiones físicas del tratamiento de personas mayores (65 años o más) y/o de pacientes con mal estado general (PS \geq 2) debido a la aparición de episodios frecuentes y graves de comorbilidad que pueden complicar la terapia (Repetto, J. Support Oncol. 2003, 1(4 Suppl.2):18-24). El estado general (PS) según el Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) (Grupo Oncológico Cooperativo del Este), Robert Comis M.D., Presidente del Grupo), consiste en escalas y criterios utilizados por médicos e investigadores para evaluar cómo progresa la enfermedad en un paciente, para evaluar cómo afecta la enfermedad las actividades de la vida diaria de los pacientes y para determinar el tratamiento apropiado y el pronóstico (Oken, et al. 1982 Am J Clin Oncol 5:649-655). El estado general 20 2 identifica "*pacientes ambulatorios capaces de cuidar de sí mismos pero incapaces de llevar a cabo cualquier actividad laboral. Están levantados aproximadamente más de 50% de las horas en que se encuentran despiertos*". Los aspectos demográficos anteriormente descritos se han tenido en cuenta en el tratamiento de pacientes que padecen mesotelioma, considerando que la mediana de edad de inicio de la enfermedad es 74 años y que más de 25 50% de los pacientes tienen un estado general de 2 o peor en el diagnóstico (Chapman et al. Thorax 2008, 63(5):435-439).

30 Durante los últimos 20 años, se han estudiado varios planteamientos, incluso si el régimen que contiene platino demostró una mayor actividad que la combinación que no contiene platino, sus efectos parecen ser modestos en términos de supervivencia libre de progresión (un parámetro predictivo relativamente fuerte de supervivencia), supervivencia y toxicidades (Fennell et al. Nat. Clin. Pract. Oncol. 2008, 5(3): 136-147).

El progreso y los datos clínicos actuales sobre el tratamiento de MPM se revisan en Ceresoli et al. The Oncologist 2007, 12:850-863. Las terapias de modalidad individual (cirugía, radioterapia y quimioterapia) han fracasado en prolongar la supervivencia del paciente.

35 El pemetrexed disódico en combinación con cisplatino es el primero y único agente quimioterapéutico que obtuvo una aprobación de comercialización para el tratamiento de pacientes que no han recibido quimioterapia previa con mesotelioma pleural maligno no extirpable. No obstante, este planteamiento quimioterapéutico logró solamente un incremento modesto en términos de ausencia de progresión (5,7 frente a 3,9 meses) y supervivencia total (12,1 frente a 9,3 meses) en comparación con la quimioterapia de cisplatino solo. Además, la combinación de quimioterapia, incluso realizada en una población de pacientes seleccionada (mediana de edad de 60 años, 40 Kamofsky estado general de por lo menos 70, que identifica a un paciente que se cuida a sí mismo y es incapaz de llevar una vida normal o de trabajar activamente; o incluso estado general mayor) fue inesperadamente tóxica y provocó varias muertes relacionadas con el tratamiento. La toxicidad se debió a interferencia con el metabolismo de homocisteína y condujo a un cambio en el protocolo, añadiendo el uso profiláctico de vitamina B12 y folato, como complemento a la terapia. La incidencia de toxicidades graves con pemetrexed más cisplatino con complemento de 45 vitaminas, en la población por Intención de Tratar (ITT), fue mayor que en la población tratada con cisplatino solo (Vogelzang et al. J Clin Oncol 2003, 21 (14): 2636-2644).

50 Actualmente, se han evaluado varios agentes biológicos en ensayos clínicos de fase II pero ninguno resultó eficaz, incluso ensayados en primera línea y en terapia combinada, exhibiendo en algunas circunstancias un patrón de toxicidad inseguro. Las investigaciones clínicas se han centrado en el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR) que se expresa en gran medida en MPM (Destro et al. Lung Cancer 2006; 51:207-215; Edwards et al Lung cancer, 2006; 54:399-407) y en el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y en el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), los cuales son importantes factores de crecimiento autocrinos en esta enfermedad. Se ha investigado el uso de inhibidores de estos receptores para el tratamiento de primera línea del mesotelioma.

55 Particularmente, en un ensayo clínico de fase II, el inhibidor de EGFR gefitinib (Iressa®), aprobado para el tratamiento de cáncer de pulmón de células no pequeñas avanzado, y que exhibe un marcado efecto anti-proliferativo en células de mesotelioma *in vitro* (Janne et al., Cancer Res 2002, 62:5242-5247), resultó no ser activo como terapia de primera línea, con una mediana de supervivencia libre de progresión inferior a tres meses, aunque

97% de los pacientes con mesotelioma experimentaron expresión excesiva de EGFR (Govindan et al. Clin Cancer Res, 2005; 11:2300-2304). En este estudio, gefitinib demostró un perfil de toxicidad específica, donde los eventos adversos de grado 3 más frecuentes (grado 3: efectos adversos intensos) estuvieron representados por diarrea, exantema y fatiga.

5 Asimismo, Imatinib (Glivec®), un inhibidor de 2-fenilaminopirimidina cinasa conocido por afectar a los receptores de c-Kit y PDGF alfa y beta, y aprobado para el tratamiento de leucemia mieloide crónica, no demostró ser eficaz como monoterapia de primera línea en términos de tiempo hasta la progresión del tumor (< 3 meses). Además, el tratamiento se interrumpió en 40% de los pacientes debido a efectos colaterales. Los efectos colaterales principales fueron edema (tobillos, rostro, genitales y pulmones), algunas veces causando exacerbación de las efusiones pleurales o abdominales, náuseas y vómitos (Mathy et al. Lung cancer 2005 50:83-86).

Se ha investigado el uso de inhibidores de angiogénesis (Ceresoli et al. The Oncologist 2007, 12:850-863). Se notificó cierta actividad con SU5416, un inhibidor de los receptores de tirosina altamente selectivo que se dirige a los receptores de VEGF Flt-1 y KDR/FIk, obstaculizados por un riesgo excesivo de trombosis.

15 Valatinib (PTK787), un inhibidor de los receptores de tirosina cinasas VEGF y PDGF, demostró una mediana de supervivencia libre de progreso de 4 meses, cuando se administró a pacientes que no habían recibido quimioterapia previa como terapia de primera línea. Las toxicidades de grado 3/4 (grade 3: efectos colaterales intensos, grado 4: efectos colaterales potencialmente mortales o incapacitantes) provocaron hemorragia gastrointestinal, neutropenia, linfopenia, náuseas/vómitos, aumento de ALT/AST, hipertensión (Jahan et al., J. Clin. Oncol., 2006 ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol. 24, N° 18S (suplemento de junio), 2006:7081).

20 Bevacizumab, un anticuerpo monoclonal anti-VEGF humano, recombinante que bloquea la unión de VEGF a sus receptores, se evaluó como tratamiento de primera línea combinado con quimioterapia en un estudio de fase II doble ciego, aleatorizado, controlado por placebo. La combinación de bevacizumab más cisplatino y gemcitabina (BGC) en pacientes no tratados previamente no alcanzó el criterio de valoración del estudio primario, sin ninguna mejora significativa en la mediana de supervivencia libre de progresión (6,9 meses para BGC frente a 6,0 meses para quimioterapia sola, p = 0,88) o en la mediana de supervivencia total (15,6 meses para GCB frente a 14,7 meses para quimioterapia sola, p = 0,91). Además, se observó una incidencia mayor estadísticamente significativa de distintas toxicidades que consistían en alopecia, hipertensión, epistaxis, proteinuria, estomatitis e infección no neutropénica en el grupo de bevacizumab (Karrison et al., J Clin Oncol. 25 (18S (Suplemento del 20 de junio)), 2007: 7526).

30 Todos los ensayos clínicos realizados hasta el momento demuestran que incluso fármacos tales como imatinib o gefitinib, ya aprobados para el tratamiento de ciertos tipos de tumores, no son activos en el mesotelioma. A su vez, los fármacos que resultan eficaces en modelos preclínicos de mesotelioma no demuestran actividad en seres humanos. Estos datos confirman que la actividad antitumoral de un fármaco contra determinados tipos de tumores no es predictiva de su actividad antitumoral en otros tipos de cáncer. Los distintos tipos de cáncer que afectan diferentes órganos tienen distinta etiología, diferente espectro subyacente de alteraciones moleculares y una forma diferente de desarrollarse. El experto en la técnica no puede predecir si un fármaco que resulta eficaz para el tratamiento de un tumor sería activo contra otro tipo de tumor.

40 En la actualidad, no hay tratamientos estándar disponibles para pacientes con progresión que le sigue a la quimioterapia de primera línea en MPM. Esta población de pacientes padece una enfermedad muy agresiva con una mediana de supervivencia libre de progresión de 1,5 meses manifestada con el uso de los mejores cuidados paliativos solamente (Jassem et al., J Clin Oncol. 2008; 26(10):1698-704). El tumor recurrente es casi invariablemente más resistente a un tratamiento de segunda línea que lo que lo fue en una primera presentación y tratamiento (Broxterman et al., Drug Resist Updat. 2003; 6(3):III-27). Además, la tolerabilidad de los pacientes a otra línea de tratamiento en general es peor después de la quimioterapia de primera línea (Berthold et al., J Clin Oncol. 2005;23(32):8247-8252).

45 El objetivo del tratamiento de segunda línea apunta no solamente a la eficacia del tratamiento anticáncer sino también a un perfil relativamente seguro y de baja toxicidad para los pacientes.

Se han estudiado diversos agentes en el tratamiento de segunda línea del mesotelioma, pero no se han observado avances en la eficacia y la toxicidad.

50 Recientemente, se ha reportado un ensayo aleatorizado, multicéntrico de fase III que examinó pemetrexed más los mejores cuidados paliativos frente a los mejores cuidados paliativos solos en pacientes con mesotelioma previamente tratados. Si bien se demostró un tiempo más prolongado estadísticamente significativo hasta la progresión de la enfermedad en el grupo que recibió quimioterapia (3,7 meses, 95% 2IC: 3,0-4,4) frente al grupo de los mejores cuidados paliativos (1,5 meses, 95% IC: 1,4-1,7), no se demostró un avance en la supervivencia total (8,4 frente a 9,7 meses, respectivamente). Las toxicidades de grado 3/4 más frecuentes fueron principalmente toxicidades hematológicas y no hematológicas tales como neutropenia febril y fatiga (Jassem et al., J Clin Oncol 2008; 26(10):1698-704).

En un estudio multicéntrico de un solo grupo de fase II, se exploró la combinación de bevacizumab más erlotinib en pacientes con mesotelioma no extirpable que habían recibido previamente un régimen de quimioterapia.

Lamentablemente, no hubo respuestas clínicas en este ensayo clínico, con un tiempo hasta la progresión del tumor de 2,7 meses. El perfil de toxicidad se caracterizó por varias toxicidades de grado 3 que incluyeron exantema, diarrea, trombosis (Jackman et al., J Thorac Oncol 2007; 2 (8):S602). En otro estudio multicéntrico de un solo grupo, de fase II, pacientes o bien sin tratamiento previo o que habían recibido previamente quimioterapia fueron tratados con el inhibidor de tirosina cinasa multi-dirigido sorafenib. Entre los pacientes pre-tratados, la supervivencia mediana libre de fracaso fue 3,6 meses. La toxicidad de grado 3/4 produjo reacción en manos y pies, y fatiga (Janne P, et al., J Clin Oncol 2007; 25 (18S): Abstract 7707).

Por lo tanto, existe la necesidad de fármacos eficaces, que tengan un perfil de toxicidad favorable, para el tratamiento del mesotelioma. La presente invención se refiere a esta necesidad. Sorprendentemente, hemos descubierto que los conjugados que comprenden un péptido dirigido y una citocina de acuerdo con las reivindicaciones son eficaces para el tratamiento del Mesotelioma Pleural Maligno y que dichos conjugados tienen un perfil de toxicidad bien tolerado.

El documento WO 01/61017 describe un producto de conjugación entre TNF o IFN γ y un ligando del receptor CD13, particularmente un péptido que contiene el motivo NGR. Los datos descritos en la patente demuestran que los conjugados de TNF son eficaces en el tratamiento de modelos de ratón de linfoma y melanoma. Asimismo, los conjugados de IFN γ y un péptido que contienen el motivo NGR tienen un potente efecto antitumoral en modelos de ratón de linfoma y fibrosarcoma (Curnis et al., Cancer Res. 2005;65(7):2906-2913). Se han descrito conjugados de diversas citocinas y restos dirigidos a tumores (WO 03/092737), y se ha demostrado (WO 03/093478) que las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos conjugados son eficaces en dosis extremadamente bajas que no inducen la activación del mecanismo de retroalimentación negativo. El documento WO 2006/067633 describe péptidos que contienen productos de degradación del motivo NGR, capaces de direccionar la integrina $\alpha\beta_3$, y conjugados que comprenden estos péptidos y citocinas. Ninguno de estos documentos describe la eficacia de los conjugados de citocina para el tratamiento del Mesotelioma Pleural Maligno.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al campo de terapia anticáncer y particularmente al tratamiento del Mesotelioma Pleural Maligno.

Actualmente, el régimen de referencia como terapia de primera línea es la combinación de cisplatino más pemetrexed, un planteamiento quimioterapéutico agresivo con un modesto incremento en términos de supervivencia libre de progresión y mediana de supervivencia y efectos tóxicos graves. Lo que es más importante, dado el antecedente natural de la enfermedad, donde la mayoría de los pacientes fallecen dentro del año del diagnóstico, la disponibilidad de nuevos agentes en el escenario de segunda línea cobra mayor importancia. Desafortunadamente, no existen tratamientos estándar disponibles para pacientes que sufren progresión después de la quimioterapia de primera línea en MPM, y los mejores cuidados paliativos siguen siendo el planteamiento de referencia para estos pacientes.

Se han investigado diversos fármacos nuevos, tanto como agentes individuales como combinados, pero ninguno de ellos resultó ser eficaz. Particularmente, hasta la fecha no se ha descrito ningún incremento en la supervivencia libre de progresión ni en la supervivencia total, mientras que sí se ha observado toxicidad de grado 3 (efectos colaterales intensos) o 4 (efectos colaterales potencialmente mortales o incapacitantes) en ensayos clínicos de fase II y de fase III.

Sorprendentemente, hemos descubierto que la administración de un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina de acuerdo con las reivindicaciones es eficaz para el tratamiento del mesotelioma, particularmente en términos de incremento de supervivencia libre de progresión y perfil de toxicidad bien tolerado del conjugado.

Particularmente, se ha observado que la administración de un conjugado que comprende el péptido dirigido CNGRG unido a través del aminoácido G (glicina) a TNF humano proporciona un beneficio clínico en pacientes insensibles o resistentes al régimen de quimioterapia de primera línea estándar.

El análisis preliminar en pacientes inscritos en la primera etapa del ensayo ha demostrado que 7 pacientes (44%; 95% intervalo de confianza (IC) 20-68%) tuvieron enfermedad estable (SD) como la mejor respuesta, con una mediana de duración de 4,4 meses (intervalo, 1,6-7,1+ meses). El índice de supervivencia libre de progresión estimado en 4,5 meses fue 37% (95% IC 10-65%), y 3 pacientes (19%) estuvieron libres de progresión a los 6 meses.

Después del final del estudio, los resultados totales obtenidos tratando 57 pacientes han demostrado que NGR-hTNF duplicó la supervivencia libre de progresión observada con los mejores cuidados paliativos, que es el tratamiento de referencia para esta población de pacientes que carece de una terapia estándar. Además, los resultados obtenidos con NGR-hTNF en términos de supervivencia libre de progresión son comparables con aquellos obtenidos con terapias de combinación, tales como gemcitabina más vinorelbina o bevacizumab más erlotinib, con la ventaja de que administrar solamente un fármaco no tiene las toxicidades asociadas con aquellos fármacos.

Dichos datos demuestran que los conjugados de citocinas y péptidos dirigidos de acuerdo con las reivindicaciones pueden utilizarse exitosamente para el tratamiento del mesotelioma, incluso como tratamiento de segunda línea de pacientes insensibles o resistentes al régimen de quimioterapia, lo que significa que son eficaces incluso en un tumor más resistente que lo que lo fue en la primera presentación y tratamiento.

5 Asimismo, la administración en bajas dosis (0,8 ug/m²) tanto en un esquema trisemanal o semanal, se asoció con un perfil de toxicidad manejable y favorable, donde solamente un paciente (2%) experimentó una toxicidad de grado 3 y ninguno experimentó eventos adversos de grado 4, ni se notificó ninguna muerte asociada con el tratamiento hasta la fecha. Las toxicidades principales de grado 1 (efectos colaterales leves) o 2 (efectos colaterales moderados) por paciente fueron síntomas constitucionales transitorios relacionados con la infusión, incluyendo escalofríos (que duran aproximadamente 15-30 minutos). El perfil de baja toxicidad observado es una ventaja clave en el tratamiento del mesotelioma, particularmente teniendo en cuenta que la mediana de edad del inicio de la enfermedad es 74 años.

10 Por consiguiente, el objetivo de un tratamiento de segunda línea, es decir, la eficacia en términos de supervivencia libre de progresión y perfil de baja toxicidad en los pacientes, se logra completamente a través de los conjugados de acuerdo con las reivindicaciones para uso en el tratamiento del mesotelioma, y claramente indica su uso eficaz en un tratamiento de primera línea.

Declaraciones de la invención

20 De acuerdo con un aspecto de la invención se provee un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina para uso en el tratamiento del mesotelioma, donde la citocina es TNF α o TNF β y donde el péptido dirigido es un péptido que contiene los motivos NGR o isoDGR o RGD.

Preferiblemente, el péptido dirigido es un péptido que contiene el motivo NGR.

25 Más preferiblemente, el péptido dirigido se selecciona del grupo que consiste en CNGRCVSGCAGRC, NGRAHA, GNGRG, CVLNGRMEC, CNGRC, CNGRCG, LNGRE, YNGRT LQCCTGNGRGEWKCE, LQCISTGNGRGEWKCE, CICTGNGRGEWKC, CISTGNGRGEWKC, D MRCTCVGNGRGEWTCY, MRCTSVGNGRGEWTCY, CTCVGNRGEWTC y CTSVGNRGEWTC lineal o cíclico.

De acuerdo con un aspecto preferido de la invención se provee un conjugado en el que el TNF está unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G (glicina).

30 De acuerdo con otro aspecto de la invención se provee una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina de acuerdo con las reivindicaciones, junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento del mesotelioma.

De acuerdo con un aspecto preferido de la invención, se provee una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un conjugado que comprende TNF unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G, junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento del mesotelioma.

35 De acuerdo con otro aspecto de la invención se provee una formulación farmacéutica que contiene un conjugado que comprende TNF unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G en una concentración en el intervalo de 0,01 a 10 mg/ml, junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento del mesotelioma.

40 Preferiblemente, la formulación farmacéutica consiste en 0,150 mg/ml de un conjugado que comprende TNF unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G disuelto en una disolución de Na₂HP0₄ 50mM, NaCl 150 mM, para uso en el tratamiento del mesotelioma.

Descripción detallada de la invención

45 La invención puede ponerla en práctica una persona con experiencia ordinaria en la técnica que empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de química, biología molecular, microbiología, DNA recombinante e inmunología. Todas estas técnicas se describen y explican en la bibliografía publicada. Véanse, por ejemplo, J. Sambrook, E. F. Fritsch, and T. Maniatis, 1989, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Second Edition, Books 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press; Ausubel, F.M. et al. (1995 y suplementos periódicos; Current Protocols in Molecular Biology, ch. 9, 13 y 16, John Wiley & Sons, New York, N.Y.); B. Roe, J. Crabtree, and A. Kahn, 1996, DNA Isolation and Sequencing: Essential Techniques, John Wiley & Sons; J. M. Polak and James O'D. McGee, 1990, In Situ Hybridization: Principles and Practice; Oxford University Press; M. J. Gait (Editor), 1984, Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach, Irl Press; y, D. M. J. Lilley and J. E. Dahlberg, 1992, Methods of Enzymology: DNA Structure Part A: Synthesis and Physical Analysis of DNA Methods in Enzymology, Academic Press.

Péptidos dirigidos

El término "péptido", tal como se emplea en la presente memoria, incluye polipéptidos y proteínas. El término "polipéptido" incluye moléculas de polipéptidos monocatenarios como también complejos de múltiples polipéptidos donde los polipéptidos constituyentes individuales están unidos por medios covalentes y no covalentes. El término "polipéptido" incluye péptidos de dos o más aminoácidos de longitud, típicamente más de 5, 10, 20, 30, 40, 50 o 100 aminoácidos.

Los péptidos pueden incluir aminoácidos en configuración D o L. Además, se pueden utilizar péptidos modificados, por ejemplo para reducir la inmunogenicidad, para aumentar la semivida circulatoria en el cuerpo del paciente, para potenciar la biodisponibilidad y/o para potenciar la eficacia y/o especificidad.

Se ha descrito una serie de planteamientos para modificar péptidos para aplicación terapéutica. Los péptidos pueden unirse a una diversidad de polímeros, tales como polietilenglicol (PEG) y polipropilenglicol (PPG) (véanse, por ejemplo, las patentes estadounidenses núm. 5.091.176, 5.214.131 y US 5.264.209) o a reticuladores bifuncionales, tales como N-succinimidil 3-(2-piridilditio) propionato, succinimidil 6-[3-(2 piridiltio) propionamido] hexanoato y sulfosuccinimidil 6-[3-(2 piridiltio) propionamido]hexanoato (véase la patente estadounidense 5.580.853).

Tal como se emplea en la presente memoria, péptido dirigido es un péptido que contiene un motivo NGR; isoDGR o RGD. Dichos péptidos son capaces de unirse a un receptor expresado en vasos asociados al tumor o a un componente de la matriz extracelular asociada a los vasos tumorales.

El péptido dirigido del conjugado puede dirigirse a los siguientes receptores: CD13/Aminopeptidasa N o integrinas.

Las aminopeptidasas son un gran grupo de enzimas implicadas en una serie de procesos biológicos tales como maduración, regulación y degradación de proteínas y polipéptidos. En particular, los estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado recientemente que la aminopeptidasa N (CD13/APN), el receptor de la secuencia de aminoácidos NGR, cumple múltiples funciones en la angiogénesis y es crítica para el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos existentes en condiciones patológicas, mientras que no es esencial para la formación de vasos sanguíneos de novo en el desarrollo embrio-fetal y en la función adulta normal (Pasqualini, Koivunen et al. 2000; Arap, Kolonin et al. 2002; Bhagwat, Lahdenranta et al. 2001; Bhagwat, Petrovic et al. 2003; Fukasawa, Fujii et al. 2006; Rangel, Sun et al. 2007).

Por lo tanto, en una realización preferida, el péptido dirigido es un péptido que contiene el motivo NGR. El péptido que contiene el motivo NGR y el método para identificar dichos péptidos se describen en los documentos WO 98/10795 y WO 99/13329.

En una realización particularmente preferida, el péptido dirigido se selecciona del grupo que consiste en CNGRCVSGCAGRC, NGRAHA, GNGRG, CVLNGRMEC, CNGRC, CNGRCG, LNGRE, YNGRT LQICTGNGRGEWKCE, LQCISTGNGRGEWKCE, CICTGNGRGEWKC, CISTGNGRGEWKC, MRCTCVGNGRGEWTCY, MRCTSVGNGRGEWTCY, CTCVGNRGEWTC y CTSVGNRGEWTC lineal o cíclico.

Una molécula de integrina está compuesta por dos subunidades de glicoproteína no covalentemente asociadas, llamadas α y β . Debido a que la misma molécula de integrina en diferentes tipos de células puede tener distintas especificidades de unión al ligando, parece que factores adicionales, específicos del tipo celular, pueden interactuar con la integrina para modular su actividad de unión, y las subunidades α y β pueden combinarse de diferentes maneras para formar receptores de integrina. Los ligandos naturales de integrina son proteínas adhesivas de las proteínas de la matriz extracelular tales como fibronectina, vitronectina, colágenos, laminina.

Muchas integrinas, particularmente la integrina $\alpha\beta3$, reconocen la secuencia de aminoácidos RGD (arginina-glicina-ácido aspártico). El péptido dirigido puede ser un péptido que contiene el motivo RDG.

Otros ligandos de integrina $\alpha\beta3$ son los péptidos que contienen productos de degradación del motivo NGR. Los detalles de estos péptidos se describen en el documento WO 2006/067633.

El péptido dirigido puede consistir en péptidos que contienen el motivo isoDGR.

Los péptidos dirigidos pueden seleccionarse del grupo que consiste en CisoDGRVSGCAGRC, isoDGRAHA, GisoDGRG, CVLisoDGRMEC, CisoDGRG, CisoDGRCG, LisoDGRE, YisoDGRT, LaCICTGisoDGRGEWKCE, LQCISTGisoDGRGEWKCE, CICTGisoDGRGEWKC, CISTGisoDGRGEWKC, MRCTCVGisoDGRGEWTCY, MRCTSVGisoDGRGEWTCY, CTCVGIsoDGRGEWTC o CTSVGIsoDGRGEWTC lineal o cíclico.

Conjugados

La presente invención se refiere a un conjugado que comprende un péptido dirigido unido a una citocina de acuerdo con las reivindicaciones, para el tratamiento del mesotelioma. La citocina es TNF α o TNF β .

Tal como se emplea en la presente memoria, el término "unido" significa que el péptido dirigido está asociado a la citocina a través de un acoplamiento químico como para formar una proteína de fusión en la que la primera secuencia (el péptido dirigido) es capaz de transportar la segunda secuencia a una célula diana. Por ende, el péptido dirigido del conjugado se une a la citocina mediante su cadena principal de polipéptidos, y la proteína de fusión resultante se obtiene a través de la expresión genética en células hospedante de una secuencia de DNA que codifica estas proteínas, o síntesis directa de proteínas o acoplamiento de secuencias pre-formadas asociadas por un agente de reticulación.

El péptido dirigido puede unirse a la citocina directamente, o indirectamente a través de un espaciador. El espaciador puede ser un aminoácido sencillo o una secuencia de aminoácidos o un residuo orgánico, por ejemplo 6-aminocapril-N-hidroxisuccinimida.

El péptido dirigido puede estar unido al término N o al término C de la citocina con el fin de evitar cualquier interferencia en la unión de la citocina a su receptor.

Alternativamente, el péptido puede estar unido a los residuos de aminoácidos que son aceptores de enlaces amido-carboxílicos, que ocurren naturalmente en la molécula o se insertan artificialmente con técnicas de ingeniería genética. El conjugado se prepara con el uso de un cDNA que comprende una secuencia 5' contigua o 3' contigua que codifica el péptido.

TNF- α

TNF- α : El TNF- α humano es un polipéptido no glucosilado de 233 residuos aa, que existe o bien como una transmembrana o como una proteína soluble. Cuando se expresa como una proteína unida a una membrana de 26 kDa, el TNF- α consiste en a dominio citoplásmico de 29 residuos aa, un segmento transmembrana de 28 residuos aa y una región extracelular de 176 residuos aa. La proteína soluble se crea por un evento de escisión proteolítica mediante una enzima convertidora de TNF-alfa de 85 kDa (TACE), que escinde un fragmento de 76 aa (residuos 1-76 de la secuencia de 233 aa) y genera una molécula de 17 kDa, de 157 residuos aa que normalmente circula como un homotrímero. La secuencia de la transmembrana TNF- α y la proteína soluble puede hallarse en el servidor de proteómica Expert Protein Analysis System o ExPASy (Sistema de Análisis de Proteínas de Expertos) del Swiss Institute of Bioinformatics (Instituto Suizo de Bioinformática), www.expasy.com, base de datos UniProtKB/Swiss-Prot, entrada P01375.

El TNF- α es una proteína de transmembrana pleiotrópica, con un amplio espectro de actividades biológicas celulares y tisulares, que oscilan desde la potenciación de la proliferación hasta la citotoxicidad directa en células tumorales, activación de respuesta inmunitaria innata y adaptativa, y efectos sobre el endotelio (Watanabe, Niitsu et al. 1988; Fajardo, Kwan et al. 1992).

De acuerdo con un aspecto preferido de la invención, se provee un producto de conjugación entre TNF α o TNF β y el péptido CNGRC, donde preferiblemente el amino-terminal de TNF está unido al péptido, preferiblemente a través de un espaciador para uso en el tratamiento del mesotelioma. Preferiblemente, el espaciador es G (glicina).

Formulación farmacéutica

Otro objeto de la invención es una formulación farmacéutica para uso en el tratamiento del mesotelioma, donde la formulación comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina de acuerdo con las reivindicaciones. En un aspecto preferido, la formulación farmacéutica comprende un conjugado de TNF α o TNF β unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G (glicina), junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables para el tratamiento del mesotelioma.

La formulación puede comprender un vehículo, diluyente, excipiente o adyuvante farmacéuticamente aceptable. La opción del vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico puede seleccionarse en base a la ruta de administración que se tenga como fin y a la práctica farmacéutica estándar. La formulación farmacéutica puede comprender como el vehículo, excipiente o diluyente, o además de éste, cualquier aglutinante, lubricante, agente de suspensión, recubridor, solubilizante adecuado, y otros agentes vehículo que pueden añadirse o aumentar la entrada vírica en el sitio diana (como por ejemplo un sistema de administración de lípidos). Los vehículos y diluyentes adecuados incluyen disoluciones salinas isotónicas, por ejemplo disolución salina tamponada con fosfato. Una descripción de los excipientes que se pueden utilizar en la invención puede hallarse en The Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª Edición, Eds Wade & Weller, American Pharmaceutical Association. La formulación de la invención puede ser para administración parenteral, intramuscular, intravenosa, subcutánea, intraocular, oral o transdérmica. En un aspecto preferido de la invención, la formulación es para administración parenteral, en la forma de una disolución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo suficientes sales o monosacáridos para tornar la disolución isotónica con la sangre. Las formulaciones para administración parenteral comprenden disoluciones o suspensiones inyectables y líquidos para infusión. Para la preparación de formas parenterales, se disolverá o suspenderá una cantidad eficaz del ingrediente activo en un vehículo estéril, opcionalmente añadiendo excipientes tales como solubilizantes, agentes de isotonicidad, conservantes, estabilizantes, emulsionantes o agentes de dispersión, y posteriormente se distribuirá en viales sellados o ampollas.

Las formulaciones farmacéuticas se prepararán para la administración diaria, semanal o mensual con el fin de obtener la dosis deseada. Las formulaciones pueden prepararse para una administración cada 2, 4, 6, 8, 10 o 12 horas.

5 Las rutas de administración y los regímenes de dosificación descritos tienen como fin ser solamente una guía, ya que el experto en la técnica será capaz de determinar la dosis real más adecuada para un paciente individual en base a la edad, el peso y la respuesta del individuo particular.

Tratamiento

10 Se describen conjugados, composiciones y formulaciones de acuerdo con las reivindicaciones para uso en el tratamiento terapéutico del mesotelioma. Tal como se emplea en la presente memoria, el término tratamiento incluye el tratamiento curativo, paliativo y profiláctico.

Ejemplo 1

Preparación de NGR- hTNF

15 Se preparó NGR-TNF recombinante humano, que consistió en TNF α -157 soluble humano unido al término C del péptido dirigido CNGRCG, mediante tecnología de DNA recombinante, y se purificó como se describe en el documento WO01/61017.

Formulación de NGR-TNF

20 Se ha formulado NGR-TNF recombinante humano purificado para obtener una especialidad farmacéutica para administrar a pacientes. La formulación farmacéutica consiste en NGR-TNF recombinante humano, en una concentración en el intervalo de 0,01 a 10 mg/ml disueltos en disolución salina tamponada con fosfato en viales de vidrio de tipo I de 3 ml y 1 ml.

La formulación preferida del concentrado para disolución para infusión se indica en la Tabla 1.

Tabla 1: formulación de NGR-hTNF

Ingrediente		Concentración	Función
NGR-hTNF		aprox. 0,15 mg/ml	Ingrediente activo
PBS	Na ₂ HPO ₄	50 mM	Diluyente
	NaCl	150 mM	
	WF1	//	

La especialidad farmacéutica se conserva a -80°C.

25 Antes de la infusión a los pacientes, se diluye NGR-hTNF en disolución salina tamponada con fosfato (PBS) hasta la concentración apropiada con NaCl al 0,9% que contiene 1 mg/ml de albúmina de suero humana (HSA). La presencia de HSA es necesaria para evitar la pérdida de NGR-hTNF, cuando está presente a muy bajas concentraciones, por absorción a los vasos y entubado.

Ejemplo II

NGR-hTNF para el tratamiento del mesotelioma

30 Selección de pacientes

Se incluyeron en el estudio pacientes que habían dado el consentimiento informado si habían tenido una confirmación histológica o citológica de sarcomatoide epitelial, y mesotelioma pleural maligno (MPM) mixta, con lesiones mensurables por tomografía computada (TAC) o resonancia magnética nuclear (RMN) de acuerdo con los criterios RECIST modificados para mesotelioma maligno.

35

Tabla 2: estado general de acuerdo con Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)

Grado	ECOG
0	Totalmente activo, capaz de realizar todas las actividades previas a la enfermedad sin restricciones
1	Restringido en actividad física vigorosa pero ambulatorio y capaz de realizar tareas de naturaleza liviana o sedentaria, p. ej., tareas de la casa livianas, tareas de oficina
2	Ambulatorio y capaz de cuidarse por sí mismo pero incapaz de realizar actividades laborales. Levantado aproximadamente más de 50% de las horas en que está despierto
3	Capaz solamente de cuidarse a sí mismo en forma limitada, restringido a una cama o silla más de 50% de las horas en que está despierto
4	Completamente discapacitado. No puede cuidarse a sí mismo. Totalmente limitado a una cama o silla
5	Muerto

5 Fue requisito que los pacientes tuvieran por lo menos 18 años de edad, que hubiesen sido previamente tratados con no más de un régimen terapéutico sistémico (la terapia con agente citotóxico intrapleural anterior, incluyendo bleomicina, no se considera sistémica), que no se hubiesen sometido a quimioterapia o radioterapia anterior dentro de los 28 días o a cirugía dentro de los 14 días anteriores al ingreso en el estudio; estado general ECOG 0-2 (véase tabla 2 para definiciones de estado general); médula ósea adecuada al inicio, función hepática y renal definidas como neutrófilos $> 1,5 \times 10^9/L$ y plaquetas $> 100 \times 10^9/L$, bilirrubina $< 1,5 \times$ límite superior de la normalidad (ULN), aspartato aminotransferasa (AST) y/o alanina aminotransferasa (ALT) $< 2,5 \times$ ULN en ausencia de metástasis hepática, AST y/o (ALT) $< 5 \times$ ULN en presencia de metástasis hepática, creatinina en suero $< 1,5 \times$ ULN; ausencia de cualquier condición en la que hipervolemia y sus consecuencias (p. ej., aumento de volumen sistólico, presión arterial elevada) o hemodilución podrían representar un riesgo para el paciente; función cardíaca normal y ausencia de hipertensión descontrolada.

15 Se excluyeron los pacientes que se sometían a una terapia anticáncer concurrente; recibían cualquier otro agente de investigación durante el estudio; exhibían signos clínicos de compromiso del sistema nervioso central; enfermedad/infección sistémica activa o descontrolada, enfermedad o afecciones médicas graves incompatibles con el protocolo; hipersensibilidad conocida/reacción alérgica a la preparación de albúmina humana o a cualquiera de los excipientes; cualquier condición psicológica, familiar, sociológica o geográfica que potencialmente obstaculizara el cumplimiento con el protocolo del estudio. Las mujeres embarazadas o lactantes no fueron incluidas en el estudio (las mujeres en edad de procrear debían proporcionar una prueba de embarazo negativa dentro de los 14 días anteriores a la inscripción) ni tampoco aquellas pacientes que no tomaran medidas anticonceptivas eficaces.

20 Diseño y métodos estadísticos del estudio

El estudio se planificó como un estudio multicéntrico, de fase II de un solo grupo, abierto, no aleatorizado y se llevó a cabo usando un método de diseño de dos etapas de Simon con 16 y 27 pacientes a inscribirse en la primera y la segunda etapas, respectivamente.

25 El criterio de valoración primario de este estudio fue la actividad antitumoral definida como la supervivencia libre de progresión (PFS). El criterio de valoración secundario incluyó el índice de control de crecimiento del tumor (TGCR), la supervivencia total (OS) y la seguridad. También se incluyeron estudios por imágenes experimentales (DCE-MRI) y los de farmacocinética.

30 Se registró la toxicidad de acuerdo con el sistema de calificación NCI Common Toxicity Criteria (Criterios de Toxicidad Frecuentes de NCI), versión 3.0.

35 Considerando el perfil de toxicidad favorable, el protocolo se modificó subsiguientemente para explorar un esquema más denso de administración de NGR-hTNF administrado en la misma dosis de $0,8 \mu g/m^2$ semanalmente. De acuerdo con la modificación del protocolo, en el caso de que ≤ 1 de los primeros 6 pacientes experimentara cualquier toxicidad hematológica de grado 4 o no hematológica de grado 3-4 durante las primeras tres semanas con la exclusión de náuseas, vómitos y fiebre que pueden controlarse rápidamente con medidas apropiadas, se habrían inscrito 6 pacientes adicionales para ensayar la factibilidad de este esquema semanal en una cohorte más grande. Globalmente, este esquema se consideró seguro si ≤ 2 de 12 pacientes experimentaron cualquier toxicidad hematológica de grado 4 o no hematológica de grado 3-4. Asimismo, si después del final del tratamiento hubo pacientes que discontinuaron el tratamiento prematuramente debido a toxicidad, el seguimiento continuaría hasta completar el estudio, hasta que cualquier otra toxicidad relacionada se hubiese resuelto o hasta el criterio clínico. Si corresponde, en caso de que los pacientes discontinuaran el tratamiento por cualquier otra razón distinta a toxicidad y antes de la progresión de la enfermedad documentada, se planeó el seguimiento cada 8 semanas para evaluación clínica y evaluación de la enfermedad hasta el primer signo de progresión o comienzo de un nuevo tratamiento anticáncer.

Plan de tratamiento

Los pacientes recibieron NGR-hTNF en una dosis de 0,8 ug/m² mediante una infusión intravenosa de 60 minutos cada 3 semanas (q3w) o semanalmente. Ante la presencia de escalofríos, de acuerdo con el criterio del investigador, se permitió el tratamiento con paracetamol como profilaxis para los ciclos subsiguientes. No se requirió ninguna modificación de la dosis formal. La duración del tratamiento se relacionó con el desenlace clínico (documentado por los criterios RECIST). En caso de enfermedad estable o respuesta objetiva, el tratamiento continuó hasta enfermedad progresiva, toxicidad inaceptable, negativa del paciente o decisión médica.

Evaluación del paciente

La evaluación de la situación inicial del paciente incluyó una evaluación médica inicial como también exámenes químicos e instrumentales. Todas las investigaciones debieron ser realizadas dentro de los 14 días antes del comienzo del tratamiento y consistieron en una evaluación completa de los antecedentes médicos, la exploración física que incluía signos vitales tales como presión arterial, temperatura corporal y evaluación de todos los síntomas clínicos, como también estado general ECOG, electrocardiogramas (ECG); se realizó un recuento de sangre completo que incluía glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito, glóbulos blancos totales, neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y otros, plaquetas. Se realizó la evaluación de química sérica, que incluía tiempo de protrombina (PT, INR), tiempo de tromboplastina parcial (PTT), creatinina, urea, bilirrubina total, albúmina, glucosa, fosfatasa alcalina (ALP), ácido úrico, lactato deshidrogenasas (LDH), y-glutamyl-transpeptidasa (yGT), ALT, AST, electrolitos (Na⁺, K⁺, Ca⁺⁺).

Se aseguró la evaluación del tumor de acuerdo con los criterios RECIST modificados para mesotelioma maligno, se realizaron pruebas de detección de VIH, VHB, VHC solamente en la situación inicial, si correspondía, según los lineamientos locales. Se exigió una prueba de embarazo en suero en mujeres con potencial reproductivo.

Durante el tratamiento, los pacientes fueron evaluados con una exploración física, así como también con estado general ECOG, ECG (si resultaba clínicamente relevante), recuentos de sangre completos y química sérica, incluyendo los mismos parámetros descritos para la situación inicial evaluada antes de cada ciclo.

Se realizó la evaluación del tumor cada 6 semanas: todos los sitios que se hallaron comprometidos en la evaluación inicial se volvieron a investigar con el mismo método, todas las lesiones elegidas como diana durante la evaluación inicial se midieron con el mismo método y, en la medida de lo posible, por la misma persona.

Resultados

Análisis de la primera etapa

El análisis de la primera etapa se realizó en los primeros 16 pacientes inscritos y tratados, sobre un total de 42 pacientes incorporados al estudio durante el primer año. Los pacientes recibieron NGR-hTNF en una dosis de 0,8 ug/m² mediante una infusión intravenosa de 60 minutos cada 3 semanas (q3w). Aproximadamente 75% de los pacientes eran hombres, la mediana de edad era 64 años (de 48 a 80 años); el estado general ECOG es 0 (7 pacientes), 1 (6 pacientes) y 2 (3 pacientes), respectivamente. La mayoría de los pacientes (69%) experimentaban MPM epitelial en comparación con MPM sarcomatoide (12,5%), mixto (6%) y desconocido (12,5%), confirmado histológicamente. En total, se completaron 58 ciclos (mediana 2, intervalo 1 - 9). Siete pacientes (44%; 95% IC 20-68%) experimentaron enfermedad estable (SD) con una mediana de duración de 4,4 meses (intervalo 1,6 – 7,1+). Los cambios máximos de la lesión diana en pacientes con SD oscilaron entre 17% de reducción y 6% de crecimiento. El índice de PFS estimado a 4,5 meses fue 37% (95% IC 10 - 65%), y tres pacientes (19%) estuvieron libres de progresión a los 6 meses.

Las toxicidades principales de grado 1-2 por paciente fueron síntomas constitucionales relacionados con la infusión, que incluyeron escalofríos (56%) y fatiga (31%). No se observaron ni eventos adversos relacionados con el tratamiento de grado 3-4 ni muerte relacionada con toxicidad.

Análisis de la segunda etapa

Se incorporó un total de 43 pacientes al estudio, incluidos 16 pacientes que pertenecían a la primera etapa y 27 pertenecientes a la segunda etapa. Estos pacientes recibieron NGR-hTNF en una dosis de 0,8 ug/m² mediante una infusión intravenosa de 60 minutos cada 3 semanas (q3w). Sesenta y tres por ciento de los pacientes eran hombres; la mediana de edad fue 64 años (de 54 a 80 años); el estado general ECOG fue 0 (24 pacientes), 1 (10 pacientes) y 2 (9 pacientes), respectivamente. La mayoría de los pacientes (79%) experimentaban MPM epitelial en comparación con histología no epitelial (21%). En total, se completaron 170 ciclos (mediana 2, intervalo 1-18 ciclos). Un paciente (2%) tuvo una respuesta parcial (el paciente se encuentra actualmente libre de progresión después de 14,3 meses) y dieciocho pacientes (42%) tuvieron enfermedad estable (SD) con una mediana de duración de 4,4 meses (intervalo 2,2 – 13,7+). Los cambios máximos de la lesión diana en pacientes SD oscilaron entre 17% de reducción y 6% de crecimiento. La PFS estimada fue 2,8 meses (95% IC, 1,9 – 3,7 meses). Un paciente de edad avanzada con un estado general de 2 y un paciente completamente resistente a la terapia anterior experimentaron momentos prolongados libres de progresión de 10,9 y 10,5 meses, respectivamente. Después de una mediana de tiempo de seguimiento de nueve meses, la mediana de supervivencia aún no se ha alcanzado.

Pacientes tratados de acuerdo con la modificación del protocolo

Asimismo, al completar la segunda etapa del estudio y conforme a la modificación del protocolo, se inscribieron 14 pacientes más en una cohorte subsiguiente que exploró NGR-hTNF administrado en la misma dosis de 0,8 ug/m² semanalmente. El esquema de dosis semanal no cambió el patrón de toxicidad de NGR-hTNF. Además, no hubo un incremento ni de la gravedad ni de la frecuencia de los eventos adversos. Asimismo, no se notificaron ni toxicidades relacionadas con los fármacos de grado 3-4 ni muertes relacionadas con toxicidad. Todos los pacientes fueron evaluables para la respuesta y siete (50%) tuvieron SD por una mediana de duración de 8,1 meses. La mediana de supervivencia libre de progresión fue de 3,0 meses. Estos datos sobre la cohorte semanal confirmaron el perfil de toxicidad seguro y la eficacia de NGR-hTNF.

10 Conclusiones

Tomados juntos, los resultados totales obtenidos por NGR-hTNF en 57 pacientes (43 tratados con un esquema trisemanal y 14 con el esquema semanal), han confirmado su función importante como terapia de segunda línea en el tratamiento de MPM avanzado. En este escenario, solamente pemetrexed demostró un beneficio clínico en términos de supervivencia libre de progresión (3,6 meses) en comparación con los mejores cuidados paliativos solos (1,5 meses). No obstante, considerando que un régimen de combinación basado en pemetrexed es el tratamiento de primera línea de elección, no existe actualmente una terapia de segunda línea disponible para pacientes con MPM que experimentan progresión después de una terapia de primera línea (es decir, la totalidad de los pacientes). Particularmente, NGR-hTNF duplicó la supervivencia libre de progresión observada con los mejores cuidados paliativos solos, que sigue siendo el planteamiento de referencia para esta población de pacientes que carecen de una terapia estándar. A su vez, estos resultados de eficacia obtenidos por NGR-hTNF como agente individual son también comparables con los mejores resultados obtenidos o bien por las combinaciones de dos agentes de quimioterapia (gemcitabina más vinorelbina) y dos agentes dirigidos (bevacizumab más erlotinib) o un agente individual (sunitinib), sin las toxicidades intensas asociadas con estos agentes. Finalmente, después de una mediana de seguimiento de 9 meses, la mediana de supervivencia aún no ha sido alcanzada. Por lo tanto, la mediana de supervivencia total obtenida con la terapia de NGR-hTNF será seguro más larga que la mediana de supervivencia registrada con alguno de los tratamientos activos o con los mejores cuidados paliativos solos en este escenario, es decir aproximadamente de 8-9 meses.

Las toxicidades principales de grado 1-2 por pacientes fueron síntomas constitucionales relacionados con la infusión, lo que incluye escalofríos (71%) y fatiga (36%). Solamente un paciente experimentó toxicidad relacionada con el tratamiento de grado 3 y no se observó ningún evento adverso relacionado con el tratamiento de grado 4 ni muerte relacionada con toxicidad.

En conclusión, NGR-hTNF demuestra un perfil de toxicidad favorable y manejable, con signos de control de la enfermedad a largo plazo en pacientes que padecen MPM previamente tratados con quimioterapia.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> MolMed SpA
 <120> Conjugados para el tratamiento del mesotelioma
 <130> 179/WO/PA
 5 <150> EP 08008872.7
 <151> 2008-05-13
 <160> 32
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 10 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 15 <400> 1
 Cys Asn Gly Arg Cys val ser Gly Cys Ala Gly Arg Cys
 1 5 10
 <210> 2
 <211> 6
 20 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 2
 25 Asn Gly Arg Ala His Ala
 1 5
 <210> 3
 <211> 5
 <212> PRT
 30 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 3
 Gly Asn Gly Arg Gly
 35 1 5
 <210> 4
 <211> 9

<212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 5 <400> 4
 Cys val Leu Asn Gly Arg Met Glu Cys
 1 5
 <210> 5
 <211> 5
 10 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 5
 15 Cys Asn Gly Arg Cys
 1 5
 <210> 6
 <211> 6
 <212> PRT
 20 <213> Secuencia artificial3
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 6
 Cys Asn Gly Arg cys Gly
 25 1 5
 <210> 7
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 30 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 7
 Leu Asn Gly Arg Glu
 1 5
 35 <210> 8
 <211> 5
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 8
 5 Tyr Asn Gly Arg Thr
 1 5
 <210> 9
 <211> 16
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 9
 Leu Gin Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu
 15 1 5 10 15
 <210> 10
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 20 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 10
 Leu Gin Cys Ile Ser Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu
 1 5 10 15
 25 <210> 11
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 30 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <400> 11
 Cys Ile Cys Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys
 1 5 10
 <210> 12
 35 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

<400> 12

Cys Ile Ser Thr Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys

5 1 5 10

<210> 13

<211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido<400> 13

Met Arg Cys Thr Cys val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr cys Tyr

1 5 10 15

<210> 14

15 <211> 16

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

20 <400> 14

Met Arg cys Thr Ser val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Tyr

1 5 10 15

<210> 15

<211> 13

25 <212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

<400> 15

30 Cys Thr Cys val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys

1 5 10

<210> 16

<211> 13

<212> PRT

35 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

<400> 16
 Cys Thr Ser val Gly Asn Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys
 1 5 10

<210> 17

5 <211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

10 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido isoaspártico
 <400> 17

15 Cys xaa Gly Arg Cys val Ser Gly Cys Ala Gly Arg Cys
 1 5 10

<210> 18
 <211> 6
 <212> PRT

20 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES

25 <222> (1)..(1)
 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 18
 xaa Gly Arg Ala His Ala
 1 5

30 <210> 19
 <211> 5
 <212> prt
 <213> Secuencia artificial
 <220>

35 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES

<222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 19
 Gly xaa Gly Arg Gly
 5 1 5
 <210> 20
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 10 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (4)..(4)
 15 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 20
 Cys val Leu xaa Gly Arg Met Glu Cys
 1 5
 <210> 21
 20 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 25 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 21
 30 Cys xaa Gly Arg cys 15
 <210> 22
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 35 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>

<221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 22
 5 Cys xaa Gly Arg Cys Gly
 1 5
 <210> 23
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 15 <222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 23
 Leu Xaa Gly Arg Glu
 1 5
 20 <210> 24
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 25 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (2)..(2)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 30 <400> 24
 Tyr Xaa Gly Arg Thr
 1 5
 <210> 25
 <211> 16
 35 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>

<223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 5 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 25
 Leu Gin Cys Ile cys Thr Gly Xaa Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu
 1 5 10 15
 <210> 26
 10 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa is iso-aspartic acid (isoD)
 <400> 26
 20 Leu Gin Cys Ile Ser Thr Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys Glu
 1 5 10 15
 <210> 27
 <211> 13
 <212> PRT
 25 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 30 <222> (6)..(6)
 <223> xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 27
 Cys Ile Cys Thr Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys
 1 5 10
 35 <210> 28
 <211> 13
 <212> PRT

<213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>

5 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 28
 Cys Ile Ser Thr Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Lys Cys

10 1 5 10
 <210> 29
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial

15 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)

20 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 29
 Met Arg Cys Thr Cys val Gly Xaa Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Tyr

1 5 10 15
 <210> 30

25 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido

30 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 30

35 Met Arg Cys Thr Ser val Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys Tyr

1 5 10 15
 <210> 31

<211> 13
 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 5 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 10 <400> 31
 Cys Thr Cys val Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Thr cys
 1 5 10
 <210> 32
 <211> 13
 15 <212> PRT
 <213> Secuencia artificial
 <220>
 <223> Descripción de secuencia artificial: péptido dirigido
 <220>
 20 <221> MOD_RES
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa es ácido iso-aspártico (isoD)
 <400> 32
 Cys Thr Ser val Gly xaa Gly Arg Gly Glu Trp Thr Cys
 25 1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina para uso en el tratamiento del mesotelioma, donde el péptido dirigido es un péptido que contiene un motivo NGR, isoDGR o RGD, y donde la citocina es TNF α o TNF β .
- 5 2. Un conjugado para uso de acuerdo con la reivindicación 1, donde el péptido dirigido es un péptido que contiene el motivo NGR.
3. Un conjugado para uso de acuerdo con la reivindicación 2, en el que el péptido dirigido se selecciona del grupo que consiste en CNGRCVSGCAGRC, NGRAHA, GNGRG, CVLNGRMEC, CNGRC, CNGRCG, LNGRE, YNGRT
10 LQC1CTGNGRGEWKCE, LQCISTGNGRGEWKCE, CICTGNGRGEWKC, CISTGNGRGEWKC,
MRCTCVGNGRGEWTCY, MRCTSVGNGRGEWTCY, CTCVGNGRGEWTC y CTSVGNGRGEWTC lineal o cíclico.
4. Un conjugado para uso de acuerdo con la reivindicación 2 o 3, donde el TNF está unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G (glicina).
5. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un conjugado que comprende un péptido dirigido y una citocina, donde el péptido dirigido es un péptido que contiene un motivo NGR, isoDGR o RGD, y
15 donde la citocina es TNF α o TNF β , junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento del mesotelioma.
6. Una composición farmacéutica para uso de acuerdo con la reivindicación 5, en la que el conjugado comprende TNF α o TNF β unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G.
7. Una formulación farmacéutica que contiene un conjugado que comprende TNF unido al péptido dirigido CNGRC a
20 través del espaciador G en una concentración en el intervalo de 0,01 a 10 mg/ml, junto con vehículos y diluyentes farmacéuticamente aceptables para uso en el tratamiento del mesotelioma.
8. Una formulación farmacéutica que consiste en 0,150 mg/ml de un conjugado que comprende TNF unido al péptido dirigido CNGRC a través del espaciador G disuelto en una disolución de Na₂HP0₄ 50mM, NaCl 150 mM para uso en el tratamiento del mesotelioma.