

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 391 382**

51 Int. Cl.:  
**A61K 31/44** (2006.01)  
**A61K 31/535** (2006.01)  
**A61K 31/65** (2006.01)  
**A61K 31/435** (2006.01)  
**A61K 31/505** (2006.01)  
**A61K 31/47** (2006.01)  
**A61P 35/00** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **10183659 .1**  
96 Fecha de presentación: **03.12.2002**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2305255**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **06.04.2011**

54 Título: **Compuestos de aril-urea en combinación con otros agentes citostáticos o citotóxicos para tratamiento de cánceres humanos**

30 Prioridad:  
**03.12.2001 US 334609 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**23.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**23.11.2012**

73 Titular/es:  
**BAYER HEALTHCARE LLC (100.0%)**  
**555 White Plains Road**  
**Tarrytown, NY 10591, US**

72 Inventor/es:  
**CARTER, CHRISTOPHER A.;**  
**GIBSON, NEIL;**  
**HIBNER, BARBARA;**  
**HUMPHREY, RACHEL W.;**  
**TRAIL, PAMELA;**  
**VINCENT, PATRICK y**  
**ZHAI, YIFAN**

74 Agente/Representante:  
**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 391 382 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**

Compuestos de aril-urea en combinación con otros agentes citostáticos o citotóxicos para tratamiento de cánceres humanos.

**Campo de la Invención**

- 5 Esta invención se refiere a compuestos de aril-urea, concretamente la sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridiloxi)fenil)urea además en combinación con agentes citotóxicos o citostáticos, concretamente 5-fluorouracilo, y su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por la quinasa raf tales como el cáncer.

**Antecedentes de la Invención**

- 10 El oncogén p21, ras es un contribuyente importante al desarrollo y la progresión de cánceres humanos sólidos y está mutado en el 30% de todos los cánceres humanos (Bolton et al. *Ann. Re. Med. Chem.* 1994, 29 165–174; *Bos. Cancer Res.* 1989, 49, 4682–9). En su forma normal, no mutada, la proteína ras es un elemento fundamental de la cascada de transducción de señales dirigida por receptores de factores de crecimiento en casi todos los tejidos (Avruch et al., *Trends Biochem. Sci.* 1994, 19, 279–83). Bioquímicamente, ras es una proteína GTPasa de fijación de nucleótidos de guanina que experimenta ciclos entre una forma activada fijada a GTP y una forma inactiva fijada a GDP. Su actividad como GTPasa endógena está estrictamente autorregulada y está controlada también por otras proteínas reguladoras. La actividad de GTPasa endógena de las mutaciones es reducida. Por esta razón, la proteína suministra señales constitutivas de crecimiento a efectores situados aguas abajo tales como la enzima quinasa raf. Esto conduce al crecimiento canceroso de las células que llevan estos mutantes (Magnuson et al. *Semin. Cancer Biol.* 1994, 5, 247–53). Se ha demostrado que la inhibición del efecto de ras activa por inhibición del camino de señalización de la quinasa raf por administración de anticuerpos desactivadores para la quinasa raf o por co-expresión de quinasa raf negativa dominante o MEK negativa dominante, el sustrato de la quinasa raf, conduce a la reversión de las células transformadas al fenotipo de crecimiento normal (véase: Daum et al. *Trends Biochem. Sci.* 1994, 19, 474–80; Friedman et al. *J. Biol. Chem.* 1994, 269, 30105–8; Kocj et al. *Nature* 1991, 349, 426–28). Estas referencias han indicado ulteriormente que la inhibición de la expresión de raf por RNA antisentido bloquea la proliferación celular en oncogenes asociados a la membrana. Análogamente, la inhibición de la quinasa raf (por oligodesoxinucleótidos antisentido) ha sido correlacionada in vitro e in vivo con la inhibición del crecimiento de una diversidad de tipos de cáncer humano (Monia et al., *Nat. Med.* 1996, 2, 668–75).

- 25 Por consiguiente, los compuestos que pueden actuar como inhibidores de la quinasa raf representan un grupo importante de agentes quimioterapéuticos para uso en el tratamiento de una diversidad de tipos de cáncer diferentes.

**Sumario de la Invención**

- 35 En líneas generales, es el objeto global de la presente invención proporcionar 5-fluorouracilo en combinación con el inhibidor de la quinasa raf tosilato de sorafenib que servirá para (1) proporcionar mejor eficacia en la reducción del crecimiento de un tumor o incluso eliminar el tumor en comparación con la administración de cualquiera de dichos agentes solo, (2) hacer posible la administración de menores cantidades de los agentes quimioterapéuticos administrados, (3) hacer posible un tratamiento quimioterapéutico que es bien tolerado en el paciente con menos complicaciones farmacológicas deletéreas que las observadas con quimioterapias de un solo agente y ciertas otras terapias combinadas, (4) hacer posible el tratamiento de un espectro más amplio de diferentes tipos de cáncer en mamíferos, especialmente humanos, (5) hacer posible una mayor tasa de respuesta entre los pacientes tratados, (6) hacer posible un tiempo de supervivencia más largo entre los pacientes tratados en comparación con los tratamientos estándar de quimioterapia, (7) hacer posible un tiempo más largo para la progresión de los tumores, y/o (8) proporcionar resultados de eficacia y tolerabilidad al menos tan buenos como los de los agentes utilizados aisladamente, en comparación con casos conocidos en los cuales otras combinaciones de agentes anticáncer producen efectos antagonistas.

**Breve Descripción de las Figuras**

La Figura 1 muestra la respuesta de aloinjertos de tumores de colon humano DLD–1 subcutáneos s.c. a Compuesto A y Camptosar solos y en combinación.

- 50 La Figura 2 muestra la respuesta de aloinjertos de tumores pancreáticos humanos MiaPaCa–2 s.c. arraigados a Compuesto A y Gemzar solos y en combinación.

La Figura 3 muestra la respuesta de aloinjertos de tumores NSCLC humanos NCI–H460 s.c. arraigados a Compuesto A y Navelbine solos y en combinación.

La Figura 4 muestra la respuesta de aloinjertos de tumores mamarios MX–1 arraigados a Compuesto A y DOX solos y en combinación.

La Figura 5 muestra la respuesta de aloinjertos de tumores de pulmón no microcítico A549 arraigados a Compuesto A y Gefitinib solos y en combinación.

### Descripción Detallada de la Invención

5 La presente invención se refiere a una combinación que comprende un compuesto de aril-urea que es tosilato de sorafenib con al menos otro agente citotóxico (a) o agente citostático (b) quimioterapéutico que es 5-fluorouracilo o sales farmacéuticamente aceptables de cualquier componente.

10 Se describe un 5-fluorouracilo y (1) un compuesto de aril-urea puenteado sustituido, o (2) un compuesto de aril-urea puenteado sustituido que tiene al menos una estructura de aril-urea puenteada con uno o más sustituyentes en el anillo remoto, o (3) un compuesto de aril-urea puenteado sustituido con  $\gamma$ -carboxamida, o (4) un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I



En la fórmula I, D es  $-\text{NH}-\text{C}(\text{O})-\text{NH}-$ ,

A es un resto sustituido de hasta 40 átomos de carbono de la fórmula:  $-\text{L}-(\text{M}-\text{L}^1)_q$ ,

15 donde L es una estructura cíclica de 5 ó 6 miembros unida directamente a D,  $\text{L}^1$  comprende un resto cíclico sustituido que tiene al menos 5 miembros, M es un grupo formador de puentes que tiene al menos un átomo, q es un número entero de 1 a 3; y cada estructura cíclica de L y  $\text{L}^1$  contiene 0-4 miembros del grupo constituido por nitrógeno, oxígeno y azufre, y

20 B es un resto arilo o heteroarilo sustituido o insustituido, hasta tricíclico, de hasta 30 átomos de carbono con al menos una estructura cíclica de 6 miembros unida directamente a D que contiene 0-4 miembros del grupo constituido por nitrógeno, oxígeno y azufre,

en donde  $\text{L}^1$  está sustituido con al menos un sustituyente seleccionado del grupo constituido por  $-\text{SO}_2\text{R}_x$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}_x$  y  $-(\text{NR}_y)\text{R}_z$ ,

$\text{R}_y$  es hidrógeno o un resto basado en carbono de hasta 24 átomos de carbono que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y opcionalmente halosustituido, hasta per-halo,

25  $\text{R}_z$  es hidrógeno o un resto basado en carbono de hasta 30 átomos de carbono que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y está sustituido opcionalmente con sustituyentes basados en halógeno, hidroxilo y carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con halógeno;

$\text{R}_x$  es  $\text{R}_z$  o  $\text{NR}_a\text{R}_b$  donde  $\text{R}_a$  y  $\text{R}_b$  son

30 a) independientemente hidrógeno,

un resto basado en carbono de hasta 30 átomos de carbono que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y está sustituido opcionalmente con halógeno, hidroxilo y sustituyentes basados en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con halógeno, o

35  $-\text{OSi}(\text{R}_f)_3$ , donde  $\text{R}_f$  es hidrógeno o un resto basado en carbono de hasta 24 átomos de carbono que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y está sustituido opcionalmente con halógeno, hidroxilo y sustituyentes basados en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con halógeno, o

40 b)  $\text{R}_a$  y  $\text{R}_b$  forman juntos una estructura heterocíclica de 5-7 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados de N, S y O, o una estructura heterocíclica sustituida de 5-7 miembros que contiene 1-3 heteroátomos seleccionados de N, S y O sustituidos con halógeno, hidroxilo o sustituyentes basados en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con halógeno; o

45 c) uno de  $\text{R}_a$  o  $\text{R}_b$  es  $-\text{C}(\text{O})-$ , un grupo alquileo  $\text{C}_1-\text{C}_5$  bivalente o un grupo alquileo  $\text{C}_1-\text{C}_5$  bivalente sustituido unido al resto L para formar una estructura cíclica con al menos 5 miembros, en donde los sustituyentes del grupo alquileo bivalente  $\text{C}_1-\text{C}_5$  sustituido se seleccionan del grupo constituido por halógeno, hidroxilo, y sustituyentes basados en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con halógeno;

50 en el caso en que B está sustituido, L está sustituido o  $\text{L}^1$  está sustituido adicionalmente, los sustituyentes se seleccionan del grupo constituido por halógeno, hasta per-halo, y  $\text{W}_n$ , donde n es 0-3;

en donde cada W se selecciona independientemente del grupo constituido por  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}^7$ ,  $-\text{SR}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ ,  $-\text{Q}-\text{Ar}$ , y restos basados en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contienen opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y están sustituidos opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo constituido por  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{OR}^7$ ,  $-\text{SR}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$  y halógeno hasta per-halo; seleccionándose cada  $\text{R}^7$  independientemente de H o un resto basado en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y está sustituido opcionalmente con halógeno,

en donde Q es  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{N}(\text{R}^7)-$ ,  $-(\text{CH}_2)_m-$ ,  $-\text{C}(\text{O})-$ ,  $-\text{CH}(\text{OH})-$ ,  $-(\text{CH}_2)_m\text{O}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_m\text{S}-$ ,  $-(\text{CH}_2)_m\text{N}(\text{R}^7)-$ ,  $-\text{O}(\text{CH}_2)_m-\text{CHX}^a-$ ,  $-\text{CX}^a_2-$ ,  $-\text{S}-(\text{CH}_2)_m-$  y  $-\text{N}(\text{R}^7)(\text{CH}_2)_m-$ , donde  $m = 1-3$ , y  $\text{X}^a$  es halógeno; y

Ar es una estructura aromática de 5 ó 6 miembros que contiene 0-2 miembros seleccionados del grupo constituido por nitrógeno, oxígeno y azufre, que está sustituida opcionalmente con halógeno, hasta per-halo, y sustituida opcionalmente con  $\text{Z}_{n1}$ , en donde  $n1$  es 0 a 3 y cada Z se selecciona independientemente del grupo constituido por  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}^7$ ,  $-\text{SR}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{R}^7$ , y un resto basado en carbono de hasta 24 átomos de carbono, que contiene opcionalmente heteroátomos seleccionados de N, S y O y está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo constituido por  $-\text{CN}$ ,  $-\text{CO}_2\text{R}^7$ ,  $-\text{COR}^7$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{OR}^7$ ,  $-\text{SR}^7$ ,  $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{NR}^7\text{R}^7$ ,  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{R}^7$  y  $-\text{NR}^7\text{C}(\text{O})\text{OR}^7$ , con  $\text{R}^7$  como se ha definido arriba.

En la fórmula I, grupos hetarilo adecuados incluyen, pero sin carácter limitante, anillos o sistemas de anillos aromáticos de 5-12 átomos de carbono que contienen 1-3 anillos, al menos uno de los cuales es aromático, en los cuales uno o más, v.g., 1-4 átomos de carbono en uno o más de los anillos pueden estar reemplazados por átomos de oxígeno, nitrógeno o azufre. Cada anillo tiene típicamente 3-7 átomos. Por ejemplo B puede ser 2- o 3-furilo, 2- o 3-tienilo, 2- o 4-triazinilo, 1-, 2- o 3-pirrolilo, 1-, 2-, 4- o 5-imidazolilo, 1-, 3-, 4- o 5-pirazolilo, 2-, 4- o 5-oxazolilo, 3-, 4- o 5-isoxazolilo, 2-, 4- o 5-tiazolilo, 3-, 4- o 5-isotiazolilo, 2-, 3- o 4-piridilo, 2-, 4-, 5- o 6-pirimidinilo, 1,2,3-triazol-1-, -4- o -5-ilo, 1,2,4-triazol-1-, -3- o -5-ilo, 1- o 5-tetrazolilo, 1,2,3-oxadiazol-4- o -5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3- o -5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2- o -5-ilo, 1,2,4-oxadiazol-3- o -5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-2- o -5-ilo, 1,3,4-tiadiazol-3- o -5-ilo, 1,2,3-tiadiazol-4- o -5-ilo, 2-, 3-, 4-, 5- o 6-2H-tio-piranilo, 2-, 3- o 4-4H-tiopiranilo, 3- o 4-piridazinilo, pirazinilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-benzofurilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-benzotienilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-indolilo, 1-, 2-, 4- o 5-bencimidazolilo, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-benzopirazolilo, 2-, 4-, 5-, 6- o 7-benzoxazolilo, 3-, 4-, 5- 6- o 7-bencisoxazolilo, 1-, 3-, 4-, 5-, 6- o 7-benzotiazolilo, 2-, 4-, 5-, 6- o 7-bencisotiazolilo, 2-, 4-, 5-, 6- o 7-benz-1,3-oxadiazolilo, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7- o 8-quinolinilo, 1-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-iso-quinolinilo, 1-, 2-, 3-, 4- o 9-carbazolilo, 1-, 2-, 3-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8- o 9-acridinilo, o 2-, 4-, 5-, 6-, 7- o 8-quinazolinilo, o fenilo que puede estar además opcionalmente sustituido, 2- o 3-tienilo, 1, 3, 4-tiadiazolilo, 3-pirrililo, 3-pirazolilo, 2-tiazolilo o 5-tiazolilo, etc. Por ejemplo, B puede ser 4-metil-fenilo, 5-metil-2-tienilo, 4-metil-2-tienilo, 1-metil-3-pirrililo, 1-metil-3-pirazolilo, 5-metil-2-tiazolilo o 5-metil-1, 2, 4-tiadiazol-2-ilo.

Grupos alquilo y porciones alquilo de grupos adecuados, v.g. alcoxi, etc. incluyen en todos los casos metilo, etilo, propilo, butilo, etc., con inclusión de todos los isómeros de cadena lineal y ramificados tales como isopropilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, etc.

Grupos arilo adecuados que no contienen heteroátomos incluyen, por ejemplo, fenilo y 1- y 2-naftilo.

El término "cicloalquilo", tal como se utiliza en esta memoria, hace referencia a estructuras cíclicas con o sin sustituyentes alquilo tales que, por ejemplo, "cicloalquilo  $\text{C}_4$ " incluye tanto grupos ciclopropilo sustituidos con metilo como grupos ciclobutilo. El término "cicloalquilo", como se utiliza en esta memoria, incluye también grupos heterocíclicos saturados.

Grupos halógeno adecuados incluyen F, Cl, Br, y/o I, siendo posible desde mono- a per-sustitución (es decir, todos los átomos H en un grupo están reemplazados por átomos de halógeno), en los que un grupo alquilo está sustituido por halógeno, siendo posible también sustitución mixta de tipos de átomos de halógeno en un resto dado.

La invención se refiere también a tosilato de sorafenib *per se*.

La invención se refiere a una preparación farmacéutica que comprende (1) cantidades de (a) un compuesto de aril-urea, a saber, el Compuesto A (definido más adelante) y (b) al menos otro 5-fluorouracilo en cantidades que son eficaces juntas para tratar un cáncer, donde 5-fluorouracilo puede estar presente también en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable si está presente al menos un grupo formador de sal, con (2) una o más moléculas portadoras farmacéuticamente aceptables.

La invención se refiere también a un método para tratamiento de un cáncer que puede tratarse por administración de un compuesto de aril-urea que está dirigido a la quinasa raf y al menos otro agente quimioterapéutico que es 5-fluorouracilo. El compuesto de aril-urea y el 5-fluorouracilo se administran a un mamífero en cantidades que, juntas, son terapéuticamente eficaces contra enfermedades proliferativas, con inclusión, pero sin carácter limitante, de cánceres de colon, estómago, pulmón, páncreas, ovario, próstata, leucemia, melanoma, cáncer hepatocelular, renal, de cabeza y cuello, glioma, y de mama. Así pues, el compuesto de aril-urea es eficaz para cánceres mediados por la quinasa raf. Sin embargo, estos compuestos son eficaces también para cánceres no mediados por la quinasa raf.

- En una realización preferida, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento de un cáncer en un mamífero, especialmente un paciente humano, que comprenden administrar el compuesto de aril-urea en combinación con 5-fluorouracilo.
- 5 En otra realización preferida, los métodos de la presente invención pueden utilizarse para tratar una diversidad de cánceres humanos, con inclusión, pero sin carácter limitante, de carcinoma de páncreas, de pulmón, de colon, de ovario, de próstata, leucemia, melanoma, cáncer hepatocelular, renal, de cabeza y cuello, glioma, y carcinoma mamario.
- 10 En otra realización preferida, se describe un método para administración de los agentes quimioterapéuticos, que incluyen los compuestos de aril-urea y los agentes citotóxicos y citostáticos, al paciente por suministro oral o por inyección o infusión intravenosa.
- En otra realización preferida, la composición que comprende el compuesto de aril-urea o el 5-fluorouracilo puede administrarse a un paciente en forma de una tableta, un líquido, un gel tópico, un inhalador o en la forma de una composición de liberación sostenida.
- 15 En una realización de la invención, el compuesto de aril-urea puede administrarse simultáneamente con 5-fluorouracilo a un paciente que padece un cáncer, en la misma formulación o, más típicamente, en formulaciones separadas y, a menudo, utilizando rutas de administración diferentes. La administración puede realizarse también secuencialmente, en cualquier orden.
- 20 En una realización preferida, el compuesto de aril-urea puede administrarse en tándem con el 5-fluorouracilo, pudiendo administrarse el compuesto de aril-urea a un paciente una o más veces al día durante hasta 28 días consecutivos con la administración concurrente o intermitente de un 5-fluorouracilo durante el mismo periodo total de tiempo.
- En otra realización preferida de la invención, el compuesto de aril-urea puede administrarse a un paciente en una dosis oral, intravenosa, intramuscular, subcutánea, o parenteral que puede variar desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal total.
- 25 En otra realización preferida, el 5-fluorouracilo puede administrarse a un paciente en una dosis intravenosa, intramuscular, subcutánea o parenteral que puede variar desde aproximadamente 0,1 mg a 300 mg/kg de peso corporal del paciente.
- 30 La síntesis escalable de una sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridiloxi)fenil)urea se describe en *Organic Process Research and Development* (2002), Vol. 6, número #6, 777-781, y la solicitud de patente también en tramitación, no. de serie 09/948.915 presentada el 10 de septiembre de 2001, que se incorpora en esta memoria por referencia.
- 35 Adicionalmente, la invención se refiere a un método de inhibición de la proliferación de células de cáncer que comprende poner en contacto células de cáncer con una preparación o producto farmacéutico de la invención, especialmente un método de tratamiento de una enfermedad proliferativa que comprende poner en contacto un individuo, células, tejidos o un fluido corporal de dicho individuo, que se sospecha padece un cáncer con una composición o producto farmacéutico de esta invención.
- Esta invención se refiere también a composiciones que contienen a la vez el compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo, en las cantidades de esta invención.
- 40 Se describen adicionalmente kits que comprenden dosis separadas de los dos agentes quimioterapéuticos mencionados en envases separados. Las combinaciones de la invención pueden formarse también in vivo, v.g., en el cuerpo de un paciente.
- 45 El término "citotóxico" hace referencia a un agente que puede administrarse para destruir o eliminar una célula de cáncer. El término "citostático" hace referencia a un agente que puede administrarse para refrenar la proliferación de un tumor en lugar de inducir citorreducción citotóxica que proporciona una eliminación de la célula de cáncer de la población total de células viables del paciente.
- El 5-fluorouracilo puede administrarse en las formulaciones y regímenes convencionales en los cuales se conoce para uso aislado.
- El compuesto de aril-urea puede inhibir la enzima quinasa raf. Adicionalmente, el compuesto puede inhibir la señalización de receptores de factores de crecimiento.
- 50 Los compuestos de aril-urea se pueden administrar por vía oral, dérmica, parenteral, por inyección, por inhalación o pulverización, por vía sublingual, rectal o vaginal en formulaciones de dosificación unitaria. El término 'administración por inyección' incluye inyecciones intravenosas, intraarticulares, intramusculares, subcutáneas y parenterales, así como el uso de técnicas de infusión. La administración dérmica puede incluir aplicación tópica o administración

transdérmica. Pueden estar presentes uno o más compuestos en asociación con uno o más portadores no tóxicos farmacéuticamente aceptables y, en caso deseado, otros ingredientes activos.

5 Las composiciones destinadas para uso oral pueden prepararse de acuerdo con cualquier método adecuado conocido en la técnica para la fabricación de composiciones farmacéuticas. Tales composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo constituido por diluyentes, agentes edulcorantes, agentes saborizantes, agentes colorantes y agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones agradables al paladar. Las tabletas contienen el ingrediente activo en mezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables que son adecuados para la fabricación de tabletas. Estos excipientes pueden ser, por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación y desintegradores, por ejemplo, almidón de maíz, o ácido algínico; y agentes aglomerantes, por ejemplo estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Las tabletas pueden carecer de recubrimiento o pueden estar recubiertas por técnicas conocidas para retardar la desintegración y adsorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de este modo una acción sostenida durante un periodo más prolongado. Por ejemplo, puede emplearse un material de retardo temporal tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Estos compuestos pueden prepararse también en forma sólida, que se libera rápidamente.

15 Las formulaciones para uso oral pueden presentarse también como cápsulas de gelatina dura en las cuales el ingrediente activo está mezclado con un diluyente sólido inerte, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o como cápsulas de gelatina blanda en las cuales el ingrediente activo está mezclado con agua o un medio aceitoso, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de parafina o aceite de oliva.

20 También pueden utilizarse suspensiones acuosas que contienen los materiales activos en mezcla con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Tales excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropil–metilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes pueden ser un fosfátido existente naturalmente, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, por ejemplo poli(estearato de oxi-etileno), o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetileno–oxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol tales como monooleato de polioxietilén–sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo monooleato de polietilén–sorbitán. Las suspensiones acuosas pueden contener también uno o más conservantes, por ejemplo *p*–hidroxibenzoato de etilo o *n*–propilo, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina.

30 Los polvos y gránulos dispersables adecuados para preparación de una suspensión acuosa por adición de agua proporcionan el ingrediente activo en mezcla con un agente dispersante o humectante, agente de suspensión y uno o más conservantes. Agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados se ilustran por los ya mencionados anteriormente. Pueden estar presentes también excipientes adicionales, por ejemplo, agentes edulcorantes, saborizantes y colorantes.

35 Los compuestos pueden encontrarse también en la forma de formulaciones líquidas no acuosas, v.g., suspensiones aceitosas que pueden formularse por suspensión de los ingredientes activos en polietilenglicol, un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete (arachis oil), aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de cacahuete (peanut oil), o en un aceite mineral tal como aceite de parafina. Las suspensiones aceitosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Pueden añadirse agentes edulcorantes tales como los indicados anteriormente, y agentes saborizantes para proporcionar preparaciones orales agradables al paladar. Estas composiciones pueden conservarse por la adición de un anti–oxidante tal como ácido ascórbico.

40 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden encontrarse también en la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase aceitosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo parafina líquida o mezclas de éstos. Agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas existentes naturalmente, por ejemplo goma arábiga o goma tragacanto, fosfátidos existentes naturalmente, por ejemplo haba de soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de sorbitán, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo monooleato de polioxietilén–sorbitán. Las emulsiones pueden contener también agentes edulcorantes y saborizantes.

45 Pueden formularse jarabes y elixires con agentes edulcorantes, por ejemplo glicerol, propilén–glicol, sorbitol o sacarosa. Tales formulaciones pueden contener también un demulcente, un conservante y agentes saborizantes y colorantes.

50 Los compuestos se pueden administrar también en la forma de supositorios para administración rectal o vaginal del fármaco. Estas composiciones pueden prepararse por mezcla del fármaco con un excipiente adecuado no irritante que es sólido a las temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal o temperatura vaginal y fundirá por consiguiente en el recto o la vagina para liberar el fármaco. Tales materiales incluyen manteca de cacao y polietilén–glicoles.

Los compuestos de la invención pueden administrarse también transdérmicamente utilizando métodos conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo: Chien; "Transdermal Controlled Systemic Medications"; Marcel Dekker, Inc.; 1987. Lipp et al. WO94/04157, 3 marzo 94). Por ejemplo, una solución o suspensión de un compuesto de aril-urea en un disolvente volátil adecuado que contiene opcionalmente agentes mejoradores de la penetración puede combinarse con aditivos adicionales conocidos por los expertos en la técnica, tales como materiales matriz y bactericidas. Después de la esterilización, la mixtura resultante puede formularse siguiendo procedimientos conocidos en formas de dosificación. Adicionalmente, por tratamiento con agentes emulsionantes y agua, una solución o suspensión de un compuesto de aril-urea puede formularse en una loción o pomada.

Disolventes adecuados para procesamiento de sistemas de suministro transdérmico son conocidos por los expertos en la técnica, e incluyen dimetilsulfóxido, alcoholes inferiores tales como etanol o alcohol isopropílico, cetonas inferiores tales como acetona, ésteres de ácidos carboxílicos inferiores tales como acetato de etilo, éteres polares tales como tetrahidrofurano, hidrocarburos inferiores tales como hexano, ciclohexano o benceno, o hidrocarburos halogenados tales como diclorometano, cloroformo, triclorotrifluoroetano, o triclorofluoroetano. Disolventes adecuados pueden incluir también mixturas de uno o más materiales seleccionados de alcoholes inferiores, cetonas inferiores, ésteres de ácidos carboxílicos inferiores, éteres polares, hidrocarburos inferiores, e hidrocarburos halogenados.

Materiales mejoradores de la penetración adecuados para sistemas de suministro transdérmico son conocidos por los expertos en la técnica, e incluyen, por ejemplo, alcoholes monohidroxilados o polihidroxilados tales como etanol, propileno-glicol o alcohol bencílico, alcoholes grasos  $C_8-C_{18}$  saturados o insaturados tales como alcohol laurílico o alcohol cetílico, ácidos grasos  $C_8-C_{18}$  saturados o insaturados tales como ácido esteárico, ésteres grasos saturados o insaturados con hasta 24 carbonos tales como los ésteres metílico, etílico, propílico, isopropílico, n-butílico, sec-butílico, isobutílico, terc-butílico o monoglicérico de ácido acético, ácido caprónico, ácido láurico, ácido mirístico, ácido esteárico, o ácido palmítico, o diésteres de ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados con un total de hasta 24 carbonos tales como adipato de diisopropilo, adipato de diisobutilo, sebacato de diisopropilo, maleato de diisopropilo, o fumarato de diisopropilo. Materiales adicionales mejoradores de la penetración incluyen derivados de fosfatidilo tales como lecitina o cefalina, terpenos, amidas, cetonas, ureas y sus derivados, y éteres tales como dimetil-isosorbida y dietilenglicol-monoetil-éter. Formulaciones adecuadas mejoradoras de la penetración pueden incluir también mixturas de uno o más materiales seleccionados de alcoholes monohidroxilados o polihidroxilados, alcoholes grasos  $C_8-C_{18}$  saturados o insaturados, ácidos grasos  $C_8-C_{18}$  saturados o insaturados, ésteres grasos saturados o insaturados con hasta 24 carbonos, diésteres de ácidos dicarboxílicos saturados o insaturados con un total de hasta 24 carbonos, derivados de fosfatidilo, terpenos, amidas, cetonas, ureas y sus derivados, y éteres.

Materiales aglomerantes adecuados para sistemas de suministro transdérmico son conocidos por los expertos en la técnica e incluyen poliacrilatos, siliconas, poliuretanos, polímeros de bloques, copolímeros estireno-butadieno, y cauchos naturales y sintéticos. Pueden utilizarse también éteres de celulosa, polietilenos derivatizados, y silicatos como componentes de la matriz. Pueden añadirse aditivos adicionales, tales como resinas o aceites viscosos para aumentar la viscosidad de la matriz.

Se describen también kits para tratamiento de cánceres de mamíferos. Tales kits pueden utilizarse para tratar un paciente con un cáncer estimulado por la quinasa raf así como cánceres no estimulados por la quinasa raf. El kit puede comprender una formulación farmacéutica simple que contiene un compuesto de aril-urea y un 5-fluorouracilo. Alternativamente, el kit puede comprender un compuesto de aril-urea y un 5-fluorouracilo en formulaciones separadas. El kit puede incluir también instrucciones concernientes al modo de administración de los compuestos a un paciente con cáncer que precisa tratamiento. El kit puede utilizarse para tratar diferentes tipos de cáncer que incluyen, pero sin carácter limitante, cánceres de colon, próstata, leucemia, melanoma, hepatocelular, renal, de cabeza y cuello, glioma, de pulmón, de páncreas, de ovario, y de mama.

Será apreciado por los expertos en la técnica que el método particular de administración dependerá de una diversidad de factores, todos los cuales se consideran rutinariamente cuando se administran compuestos terapéuticos. Se comprenderá también, sin embargo, que el nivel de dosificación específico para un paciente dado dependerá de una diversidad de factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad del paciente, el peso corporal del paciente, el estado general de salud del paciente, el sexo del paciente, la dieta del paciente, el tiempo de administración, la ruta de administración, la tasa de excreción, las combinaciones de fármacos, y la gravedad de la afección sometida a terapia. Será apreciado además por un experto en la técnica que el curso óptimo del tratamiento, es decir, el modo de tratamiento y el número diario de dosis de un compuesto de aril-urea o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo administradas durante un número definido de días, puede ser determinado por los expertos en la técnica utilizando tests de tratamiento convencionales.

La utilidad de una combinación de un compuesto de aril-urea con un 5-fluorouracilo es mejor de lo que podría esperarse a partir del conocimiento convencional de los efectos de la utilización de cualquier agente anticáncer aisladamente considerado. Por ejemplo, la terapia de combinación de un compuesto de aril-urea con los agentes citotóxicos irinotecán, gemcitabina, vinorelbina, o paclitaxel ha producido al menos una eficacia antitumoral aditiva en comparación con la producida por la administración del compuesto de aril-urea o de los agentes citotóxicos administrados aisladamente. Por lo general, el uso de agentes citotóxicos y citostáticos en combinación con inhibidores de la quinasa raf de compuestos de aril-urea servirá para (1) proporcionar mejor eficacia en la reducción

del crecimiento de un tumor o incluso eliminar el tumor en comparación con la administración de un solo agente quimioterapéutico, (2) hacer posible la administración de menores cantidades de los agentes quimioterapéuticos administrados, (3) hacer posible un tratamiento quimioterapéutico que es bien tolerado en el paciente con menos complicaciones farmacológicas deletéreas resultantes de las mayores dosis de las quimioterapias individuales y ciertas otras terapias combinadas, (4) hacer posible el tratamiento de un espectro más amplio de diferentes tipos de cáncer en mamíferos, especialmente humanos, (5) hacer posible una mayor tasa de respuesta entre los pacientes tratados, (6) hacer posible un mayor tiempo de supervivencia entre los pacientes tratados en comparación con tratamientos de quimioterapia estándar, (7) conducir a un tiempo más largo para progresión del tumor, y/o (8) proporcionar resultados de eficacia y tolerabilidad al menos tan satisfactorios como los de los agentes utilizados aisladamente, en comparación con casos conocidos en los que otras combinaciones de agentes anti-cáncer producen efectos antagonistas.

El compuesto de aril-urea puede administrarse a un paciente a una dosis que puede variar desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal total. La dosis diaria para administración oral será preferiblemente desde 0,1 a 300 mg/kg de peso corporal total. La dosis diaria para administración por inyección que incluye inyección intravenosa, intramuscular, subcutánea y parenteral así como técnicas de infusión será preferiblemente desde 0,1 a 300 mg/kg de peso corporal total. El régimen de dosificación vaginal diario será preferiblemente desde 0,1 a 300 mg administrados entre 1 y 4 veces al día. La concentración transdérmica será preferiblemente la requerida para mantener una dosis diaria de 1 a 300 mg/kg. Para todas las rutas de administración arriba mencionadas, la dosis preferida es 0,1 a 300 mg/kg. El régimen de dosificación diario por inhalación será preferiblemente desde 0,1 a 300 mg/kg de peso corporal total.

El 5-fluorouracilo puede administrarse a un paciente a una dosis que puede variar desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal total. Asimismo, los agentes pueden administrarse también en cantidades convencionales utilizadas rutinariamente en quimioterapia del cáncer.

Tanto para el compuesto de aril-urea como para el 5-fluorouracilo, la dosificación administrada del compuesto puede modificarse dependiendo de cualesquiera resultados superiores o inesperados que puedan obtenerse tal como se determinan rutinariamente con esta invención.

El compuesto de aril-urea se puede administrar por vías oral, tópica, parenteral, rectal, por inhalación, y por inyección. La administración por inyección incluye las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea y parenteral así como técnicas de infusión. El compuesto de aril-urea puede estar presente en asociación con uno o más portadores no tóxicos farmacéuticamente aceptables y, si se desea, otros ingredientes activos. Una ruta de administración preferida para el compuesto de aril-urea es la administración oral.

El 5-fluorouracilo se puede administrar a un paciente por vías oral, tópica, parenteral, rectal, por inhalación, y por inyección. La administración por inyección incluye las vías intravenosa, intramuscular, subcutánea, y parenteral, así como técnicas de infusión. Los agentes se pueden administrar por cualquiera de las rutas de administración convencionales para estos compuestos. La ruta de administración preferida para 5-fluorouracilo utilizando esta invención es típicamente por inyección, que es la misma ruta de administración utilizada para el agente aisladamente considerado. Cualquiera de los agentes citotóxicos o citostáticos se puede administrar en combinación con un compuesto de aril-urea por cualquiera de las rutas de administración mencionadas.

Para la administración del compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo por cualquiera de las rutas de administración expuestas en esta memoria, el compuesto de aril-urea se puede administrar simultáneamente con el 5-fluorouracilo. Esto puede realizarse administrando una sola formulación que contiene a la vez el compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo o administrando al mismo tiempo en formulaciones independientes el compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo a un paciente.

Alternativamente, el compuesto de aril-urea se puede administrar en tándem con 5-fluorouracilo. El compuesto de aril-urea se puede administrar antes del 5-fluorouracilo. Por ejemplo, el compuesto de aril-urea se puede administrar una o más veces al día hasta 28 días consecutivos, seguido por administración de 5-fluorouracilo. Asimismo, el 5-fluorouracilo puede administrarse primeramente seguido por la administración del compuesto de aril-urea. La elección de la administración secuencial del compuesto de aril-urea con relación al 5-fluorouracilo puede variar para diferentes agentes. Asimismo, el 5-fluorouracilo puede administrarse utilizando cualquier régimen que se utilice convencionalmente para estos agentes.

En otro régimen de administración, el compuesto de aril-urea y el 5-fluorouracilo pueden administrarse una o más veces al día por día de administración.

Cualquiera de las rutas y regímenes de administración puede modificarse dependiendo de cualesquiera resultados superiores o inesperados que puedan obtenerse tal como se determina rutinariamente con esta invención.

Sin mayor elaboración, se cree que un experto en la técnica puede, empleando la descripción que antecede, utilizar la presente invención en su más plena extensión. Las realizaciones específicas preferidas siguientes deben

interpretarse, por tanto, como meramente ilustrativas, y no limitantes del resto de la descripción en modo alguno, cualquiera que sea éste.

En lo que antecede y en los ejemplos que siguen, todas las temperaturas se dan en grados Celsius sin corregir, y todas las partes y porcentajes se expresan en peso, a no ser que se indique otra cosa.

- 5 Para los propósitos de los experimentos descritos en esta memoria en los ejemplos, el compuesto de aril-urea (Compuesto A) es una sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridiloxi)fenil)urea.

## EJEMPLOS

### Animales

- 10 Se utilizaron ratones hembra Ncr *nu/nu* (Taconic Farms, Germantown, NY) para todos los estudios *in vivo* que implicaban los modelos de tumor DLD-1 y NCI-H460. Para los estudios que implicaban el modelo de tumor Mia-PaCa-2 se utilizaron ratones hembra CB-17 SCID (Taconic Farms, Germantown, NY). Los ratones se alojaron y mantuvieron en el Departamento de Medicina Comparativa en Bayer Corporation, West Haven, CT de acuerdo con las directrices de Bayer IACUC, estatales y federales para tratamiento humanitario y cuidado de animales de laboratorio. Los ratones recibieron alimento y agua *ad libitum*.

### Compuestos

En todos los estudios se utilizó el Compuesto A (lote 9910071). El Compuesto A es un polvo seco con un color que varía desde blanco a marfil o amarillo claro. El Compuesto A se guardó en la oscuridad hasta su utilización.

- 20 Camptosar<sup>®</sup> (números de lote 09FDY y 27FMR) fue fabricado por Pharmacia-Upjohn y se recibió suministrado como una solución de 20 mg/ml. El producto se guardó a la temperatura ambiente tal como se indicaba en el prospecto del paquete.

Gemzar<sup>®</sup> (Gemcitabina-HCl) fue fabricado por Eli Lilly and Company y se recibió suministrado como un polvo seco. El producto se guardó a la temperatura ambiente tal como se indicaba en el prospecto del paquete.

- 25 Navelbine<sup>®</sup> (tartrato de vinorelbina) fue fabricado por Glaxo Wellcome, y se recibió como solución de 10 mg/ml. Se guardó a 4°C como se indicaba en el paquete.

DOX (Doxorrubicina-HCl) fue fabricado por Bedford Laboratories (lote 110033) y se recibió suministrado como un polvo liofilizado rojo/anaranjado. Se guardó a 4°C y protegido contra la luz.

- 30 Gefitinib (ZD1839) (4-(3-cloro-4-fluoroanilino)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolina fue sintetizado por Albany Medical Research (Syracuse, NY). ZD1839 se guardó en la oscuridad a la temperatura ambiente hasta su utilización.

### Vehículos

- 35 Cremophor EL/etanol (50:50) (Sigma Cremophor EL Cat. #C-5135; 500 g, alcohol etílico de 95%), se preparó como una solución stock, se envolvió con lámina delgada de aluminio, y se guardó a la temperatura ambiente. El Compuesto A se formuló al cuádruple (4X) de la dosis máxima en esta solución de Cremophor EL/etanol (50:50). Esta solución stock 4X se preparó nuevamente cada 3 días. Las soluciones de dosificación finales se prepararon el día de utilización por dilución a 1X con agua destilada exenta de endotoxinas (GIBCO, Cat. # 15230-147) y se mezclaron por agitación enérgica inmediatamente antes de la dosificación. Se prepararon dosis menores por dilución de la solución 1X con Cremophor EL/etanol/agua (12,5:12,5:75). El vehículo para Camptosar<sup>®</sup> y Gemzar<sup>®</sup> era solución salina al 0,9% y el vehículo para Navelbine<sup>®</sup> era D5W. Todos los vehículos y las soluciones de compuestos se guardaron a la temperatura ambiente y envueltos en lámina metálica.

### Líneas de Tumores

- 45 El carcinoma de colon humano DLD-1 y el carcinoma de páncreas humano MiaPaCa-2 se obtuvieron del Depósito de la American Type Tissue Culture Collection. El tumor mamario humano MX-1 se obtuvo del depósito de tumores del NCI. Los tumores se mantuvieron como una pasada *in vivo* seriada de fragmentos s.c. (3 x 3 mm) implantados en el ijar utilizando un trocar de calibre 12. Se inició una nueva generación de la pasada cada 3 ó 4 semanas.

- 50 Las líneas de carcinoma de pulmón humano no microcítico NCI-H460 y A549 se obtuvieron del Depósito de la American Type Tissue Culture Collection. Las células NCI-H460 se mantuvieron y sometieron a pasos *in vitro* utilizando DMEM (GIBCO Cat. # 11995-065; 500 ml) complementado con 10% de suero bovino fetal desactivado por calentamiento (JRH Biosciences Cat. # 12106-500M), L-glutamina 2 mM (GIBCO Cat. # 25030-81), tampón HEPES 10 mM (GIBCO Cat. # 15630-080) y penicilina-estreptomocina (GIBCO Cat. # 15140-122; 5 ml/50 ml DMEM). Las células A549 se mantuvieron y sometieron a pasos utilizando medio RPMI 1640 (GIBCO Cat. # 11875-085; 1000 ml) complementado con 10% de suero bovino fetal desactivado por calentamiento (JRH Biosciences Cat.

# 12106–500M). Todas las células se mantuvieron a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub> en una incubadora de CO<sub>2</sub> Fisher Scientific 610.

#### *Experimentos de Aloinjertos Tumorales*

5 Se implantaron subcutáneamente ratones hembra con fragmentos de tumor DLD–1, MX–1 o Mia–PaCa–2 procedentes de una pasada *in vivo*. Los estudios con las células NCI–H460 y A549 se iniciaron por recogida de las células procedentes de un cultivo *in vitro* por adición de Tripsina–EDTA (GIBCO Cat. # 25200–056) durante dos minutos seguido por centrifugación de las células para obtener un sedimento y resuspensión en HBSS (GIBCO Cat. # 14025–092) hasta un recuento final de células de 3–5 x 10<sup>7</sup> células viables/ml. Se inyectó un volumen de 0,1 ml de la suspensión de células por vía subcutánea en el ijar derecho de cada ratón. Todos los tratamientos se iniciaron cuando todos los ratones incluidos en el experimento presentaban tumores arraigados comprendidos en tamaño desde 100 a 150 mg. Se observó el estado general de salud de los ratones y se registró diariamente la mortalidad. Las dimensiones de los tumores y los pesos corporales se registraron dos veces por semana comenzando el primer día de tratamiento. Se practicó la eutanasia a los animales de acuerdo con las directrices de Bayer IACUC. Los tratamientos que producían más de 20% de letalidad y/o 20% de pérdida de peso corporal neta se consideraron 'tóxicos'.

Se calcularon los pesos de tumor utilizando la ecuación  $(l \times w^2)/2$ , donde *l* y *w* se refieren a las dimensiones máxima y mínima obtenidas en cada medida. En cada experimento, se seleccionó un punto final de evaluación tal que el tiempo mediano para los tumores en el grupo de control hasta alcanzar dicho tamaño era ligeramente mayor que la duración del tratamiento. La eficacia antitumoral se midió como la incidencia de regresiones completas (CR) definidas como tumores que se reducen hasta por debajo del límite de medida (3 mm) tanto en longitud como en anchura, regresiones parciales (PR) definidas como tumores que se reducen en más de 50% pero menos de 100% de su tamaño inicial; y supresión porcentual del crecimiento del tumor (% TGS). La TGS se calcula por la ecuación  $[(T-C)/C]*100$ , donde T y C representan los tiempos para que los tumores medianos en los grupos tratado (T) y sin tratar de control (C), respectivamente, alcancen el tamaño de evaluación para dicho experimento.

## 25 **Resultados**

### *Combinación de compuesto A y agentes citotóxicos/citostáticos*

La quimioterapia de combinación más intensa anticipada en el desarrollo clínico del compuesto A para el tratamiento del cáncer implicaría la administración diaria de compuesto A administrado a todo lo largo del periodo de tiempo que abarcaba la administración intermitente de agentes citotóxicos/citostáticos tales como v.g., Camptosar<sup>®</sup>, Gemzar<sup>®</sup>, Navelbine<sup>®</sup> o DOX que constituyen la práctica clínica actual con cada uno de estos agentes. A fin de explorar las interacciones potenciales de estos agentes, se modelizó este protocolo clínico anticipado en el modelo preclínico de los autores de la invención, superponiendo los protocolos de los agentes individuales (qd x 9 para el compuesto A y qd x 3 para Camptosar<sup>®</sup>, Gemzar<sup>®</sup>, Navelbine<sup>®</sup> o DOX) comenzando ambas terapias en cada experimento el mismo día. Un protocolo alternativo de quimioterapia de combinación consistiría en la administración diaria de compuesto A a lo largo del periodo de tiempo que abarca la administración continua de agentes citostáticos tales como Iressa<sup>®</sup>. A fin de explorar las interacciones potenciales de estos agentes, el modelo preclínico se estableció superponiendo los protocolos de los agentes individuales (qd x 9 ó 10 tanto para el compuesto A como para Iressa<sup>®</sup>). Estos protocolos se denominan 'Terapia Concurrente'. Cada estudio estaba constituido por un grupo de control sin tratar de 10–20 animales y grupos tratados de 10 ratones por grupo.

## 40 **Ejemplo 1**

En el primer estudio, se administró Camptosar<sup>®</sup> por vía intraperitoneal a 40 mg/kg/dosis. El compuesto A se administró por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 80 mg/kg/dosis. Todo el tratamiento se inició el día 7 después del implante cuando todos los animales presentaban aloinjertos de tumor de colon humano DLD–1 pequeños pero arraigados con un promedio de 108 mg de tamaño. Los tumores de control crecían progresivamente en todos los animales con un tiempo medio de duplicación de 4,4 días. El punto final de la evaluación utilizado para calcular los parámetros de retardo del crecimiento fue el tiempo hasta 3 duplicaciones de la masa. El tiempo mediano para que los tumores en el grupo de control sin tratar alcanzaran dicho tamaño fue 10,4 días.

Camptosar<sup>®</sup> era bien tolerado como agente aislado con pérdida mínima de peso ni letalidad alguna. El nivel de dosis de 40 mg/kg produjo una TGS de 71% sin regresión alguna completa o parcial de los tumores.

50 El compuesto A era también bien tolerado como agente aislado, sin producir pérdida de peso significativa ni letalidad alguna a 80 mg/kg/dosis. El compuesto A produjo una TGS de 100%.

No se registró aumento alguno en la pérdida de peso ni letalidad alguna asociada con la combinación de Camptosar<sup>®</sup> con el compuesto A. La eficacia antitumoral de la terapia concurrente era al menos aditiva, produciendo una TGS de 229%. Este valor estaba asociado con 3 PR's.

**Ejemplo 2**

El segundo estudio evaluó Gemzar<sup>®</sup>, administrado por vía i.p. a 120 mg/kg/dosis conforme a un protocolo q4d x 3 y compuesto A, administrado por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 40 mg/kg/dosis. Todo el tratamiento se inició el día 7 después del implante cuando todos los animales presentaban aloinjertos de tumor pancreático humano Mia PaCa pequeños pero arraigados que promediaban 108 mg de tamaño. Los tumores de control crecían progresivamente en todos los animales con un tiempo medio de duplicación de 4,1 días. El punto final de la evaluación utilizado para calcular los parámetros de retardo del crecimiento fue el tiempo hasta dos duplicaciones de masa. El tiempo mediano para que los tumores en el grupo de control sin tratar alcanzaran dicho tamaño fue 5,8 días.

Gemzar<sup>®</sup> era bien tolerado como agente aislado, sin pérdida de peso ni letalidad alguna. Este nivel de dosis produjo una TGS de 154% sin regresión completa o parcial alguna de los tumores. El compuesto A era también bien tolerado como agente aislado, sin producir pérdida de peso significativa ni letalidad alguna al nivel de dosis de 80 mg/kg. El compuesto A produjo una TGS de 112%. No se registró aumento alguno en la pérdida de peso ni letalidad alguna asociados con la combinación de Gemzar<sup>®</sup> con compuesto A. La eficacia antitumoral de la terapia concurrente de 120 mg/kg Gemzar<sup>®</sup> y 40 mg/kg compuesto A era al menos aditiva, produciendo una TGS de 222%. Este valor estaba asociado con 2 PR's.

**Ejemplo 3**

El tercer ejemplo demuestra el efecto de la combinación de compuesto A, administrado por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 40 mg/kg/dosis y Navelbine<sup>®</sup>, administrado por vía intravenosa conforme a un protocolo q4d x 3 a 6,7 mg/kg/dosis. Todo el tratamiento se inició el día 6 después del implante cuando todos los animales presentaban aloinjertos pequeños pero arraigados de tumor humano de pulmón NCI-H460 no microcítico que promediaban 100 mg de tamaño. Los tumores de control crecían progresivamente en todos los animales con un tiempo medio de duplicación de 3,1 días. El punto final de evaluación utilizado para calcular los parámetros de retardo del crecimiento fue el tiempo para tres duplicaciones de masa. El tiempo mediano para que los tumores en el grupo de control sin tratar alcanzaran dicho tamaño fue 7,4 días. El nivel de dosificación de 6,7 mg/kg de Navelbine<sup>®</sup> era una dosis tolerada máxima aproximada que producía un valor medio de 19% de pérdida de peso durante el período de tratamiento como agente aislado. Este valor estaba asociado con un 32% de TGS. El compuesto A era bien tolerado, sin pérdida de peso significativa alguna y producía una TGS de 104%. La combinación de estos tratamientos era bien tolerada, sin letalidad alguna y con una pérdida de peso media de 14% (menor que la producida por Navelbine<sup>®</sup> solo). La eficacia antitumoral de esta combinación era también aproximadamente aditiva con una TGS de 133%.

**Ejemplo 4**

El cuarto ejemplo demuestra el efecto de la combinación de compuesto A, administrado por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 40 mg/kg/dosis y DOX, administrado por vía i.v. conforme a un protocolo q4d x 3 a 4 mg/kg/dosis. Todos los tratamientos se iniciaron el día 6 después del implante cuando todos los animales presentaban tumores pequeños pero arraigados que promediaban 66 mg de tamaño. Los tumores de control crecían progresivamente en todos los animales con un tiempo medio de duplicación de 3,7 días. El punto final de evaluación utilizado para calcular los parámetros de retardo del crecimiento fue el tiempo hasta cuatro duplicaciones de masa. El tiempo mediano para que los tumores del grupo de control sin tratar alcanzaran dicho tamaño fue 14,5 días. El nivel de dosificación de 4 mg/kg de DOX era bien tolerado, produciendo un promedio de 5% de pérdida de peso durante el período de tratamiento como un agente aislado. Este valor estaba asociado con una TGS de 43%. El compuesto A era bien tolerado sin pérdida de peso significativa alguna y producía una TGS de 46%. La combinación de estos tratamientos era tolerada sin letalidad alguna y con una pérdida de peso media de 12%. La eficacia antitumoral de esta combinación era también aproximadamente aditiva con una TGS de 133%.

**Ejemplo 5**

El quinto ejemplo demuestra el efecto de la combinación de compuesto A, administrado por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 80 mg/kg/dosis y Gefitinib (Iressa<sup>®</sup>), administrado por vía oral conforme a un protocolo qd x 9 a 150 mg/kg/dosis. Todo el tratamiento se inició el día 15 después del implante cuando todos los animales presentaban aloinjertos de tumor de pulmón humano no microcítico A549 pequeños pero arraigados que promediaban 110 mg de tamaño. Los tumores de control crecían progresivamente en todos los animales con un tiempo medio de duplicación de 10,5 días. El punto final de evaluación utilizado para calcular los parámetros de retardo del crecimiento era el tiempo hasta una sola duplicación de la masa.

El nivel de dosis de 150 mg/kg de Iressa<sup>®</sup> era bien tolerado, sin producir pérdida de peso ni letalidad alguna durante el período de tratamiento como agente aislado. Este tratamiento estaba asociado con un 101% de TS y 1 PR. El compuesto A era también bien tolerado como agente aislado sin pérdida de peso ni letalidad alguna y producía una TGS de 218% con 1 CR y 2 PRs. La combinación de estos tratamientos era tolerada con una sola muerte inespecífica de un total de 10 ratones y un promedio de 10% de pérdida de peso. La eficacia antitumoral de esta combinación era aproximadamente aditiva con una TGS de 314%. Este tratamiento producía también 6 CR's y 3 PR's.

**REIVINDICACIONES**

1. Uso de un compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la preparación de un medicamento para tratamiento de un cáncer, en donde dicho compuesto de aril-urea es un una sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil) fenil-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridil oxi) fenil) urea.
2. El uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho cáncer está mediado por la quinasa ref.
- 5 3. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho cáncer es cáncer de colon, gástrico, de pulmón, pancreático, de ovario, de próstata, leucemia, melanoma, hepatocelular, renal, glioma, mamario, o de cabeza y cuello.
4. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho medicamento se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz a un paciente que se encuentra en necesidad de ello por suministro oral o por inyección o infusión intravenosa.
- 10 5. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho medicamento se administra en una cantidad terapéuticamente eficaz a un paciente que se encuentra en necesidad de ello en la forma de una tableta, un líquido, un gel tópico, un inhalador de la forma de una composición de liberación sostenida.
6. El uso de la reivindicación 1, en donde la sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil) fenil-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridil oxi) fenil) urea se administra a un paciente en una dosis oral, intravenosa, intramuscular, 15 subcutánea o parenteral que puede oscilar desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300 mg/kg de peso corporal total.
7. El uso de la reivindicación 1 para inhibición de la proliferación de células de cáncer en un paciente.
8. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto de aril-urea se administra simultáneamente con 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 20 9. El uso de la reivindicación 8, en donde dicho compuesto de aril-urea y 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se administran en la misma formulación o formulaciones separadas.
10. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto de aril urea se administra secuencialmente con 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en cualquier orden.
- 25 11. El uso de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto de aril urea se administra en tándem con 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en donde dicho compuesto de aril urea puede administrarse a un paciente una o más veces al día durante hasta 28 días consecutivos con la administración concurrente o intermitente de 5-fluorouracilo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo durante el mismo período total de tiempo.
- 30 12. Un compuesto de aril-urea, que es una sal tosilato de N-(4-cloro-3-(trifluorometil) fenil-N'-(4-(2-(N-metilcarbamoil)-4-piridil oxi) fenil) urea .

Efecto de la Terapia Concurrente con Compuesto A y Camptosar  
 Contra Aloinjertos Arraigados de Tumor de Colon Humano DLD-1 s.c.

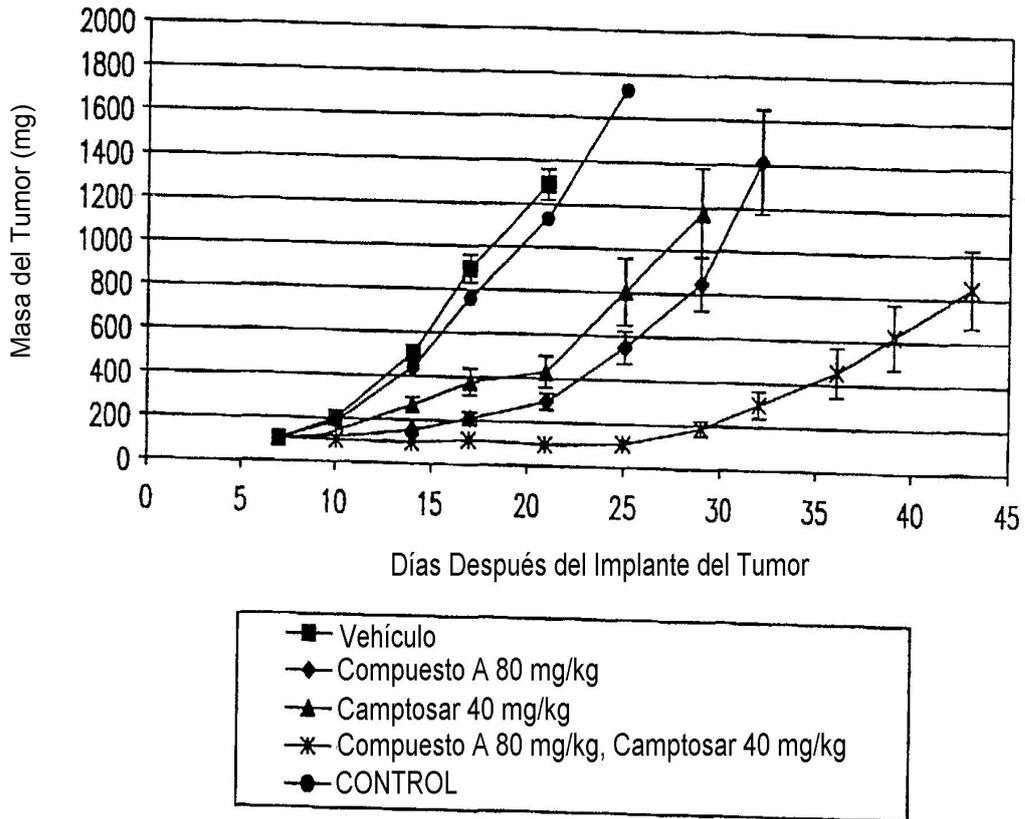


FIG. 1

Efecto de la Terapia Concurrente con Compuesto A y Gemzar  
 Contra Aloinjertos Arrraigados Pancreáticos Humanos Mia-PaCa-2 s.c.

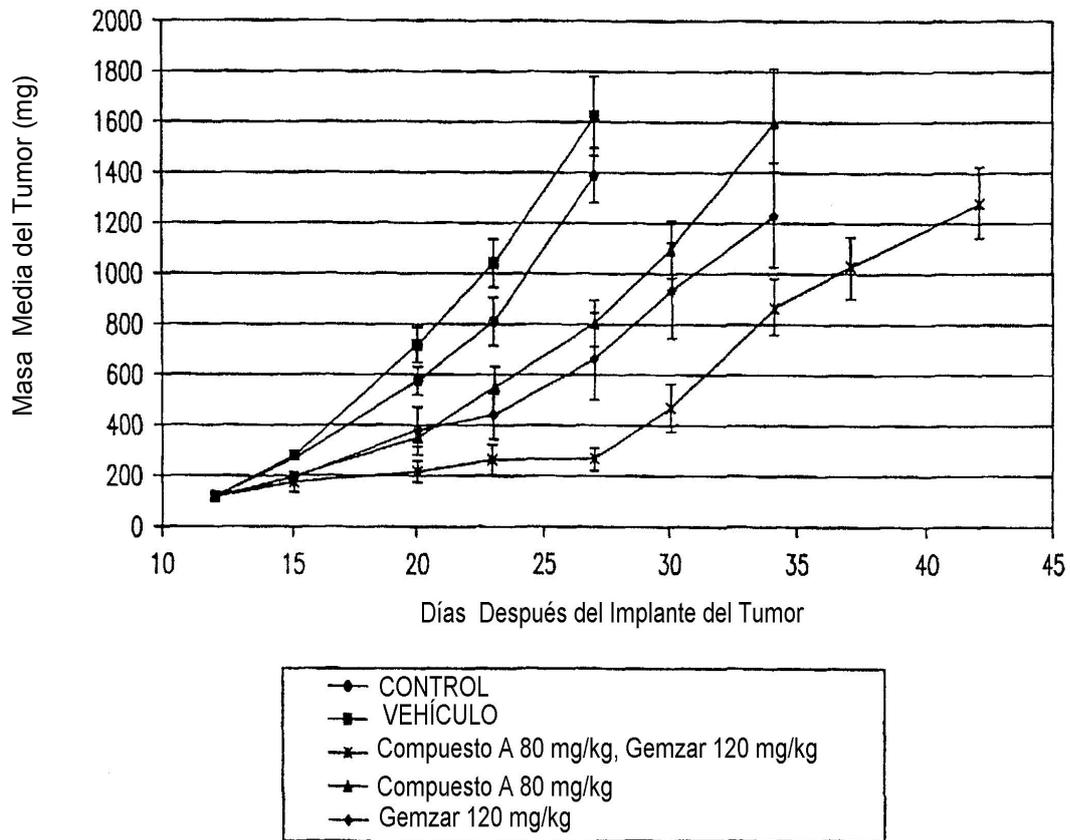


FIG. 2

Efecto de la Terapia Concurrente con Compuesto A y Navelbine Contra Aoinjertos Arrraigados NSCLC Humanos NCI-H460 s.c.

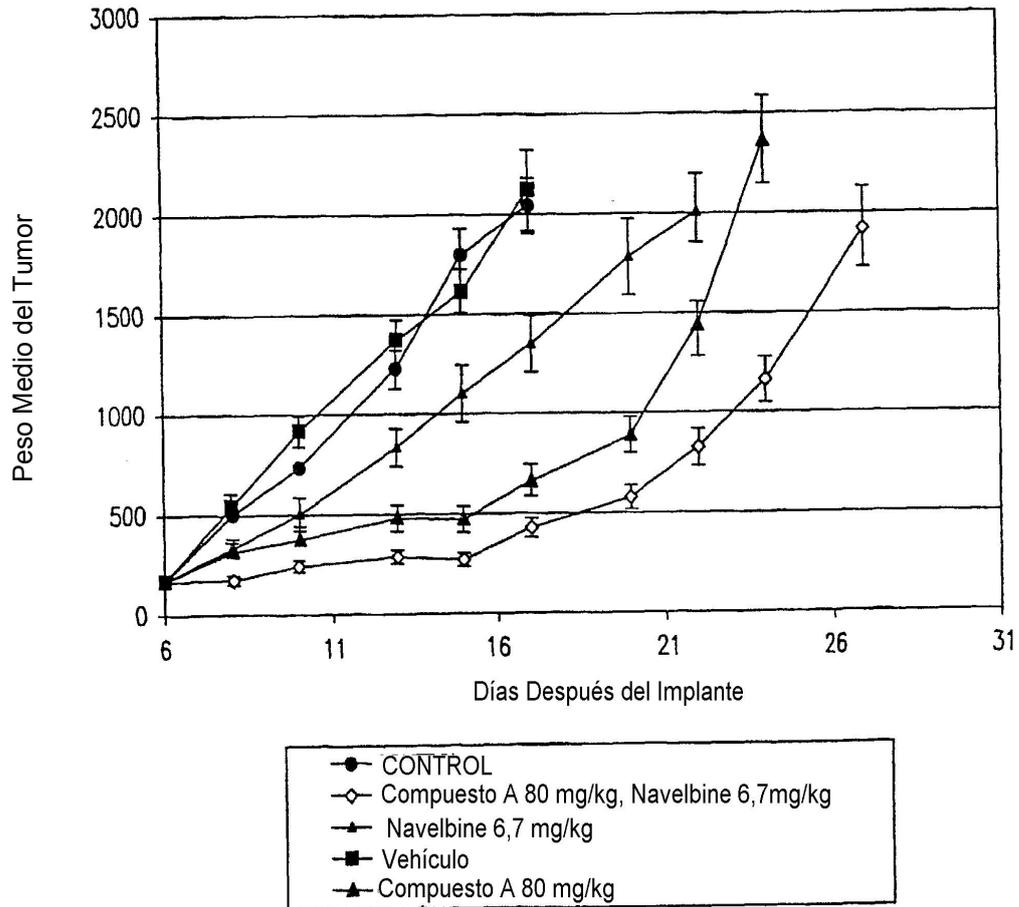


FIG. 3

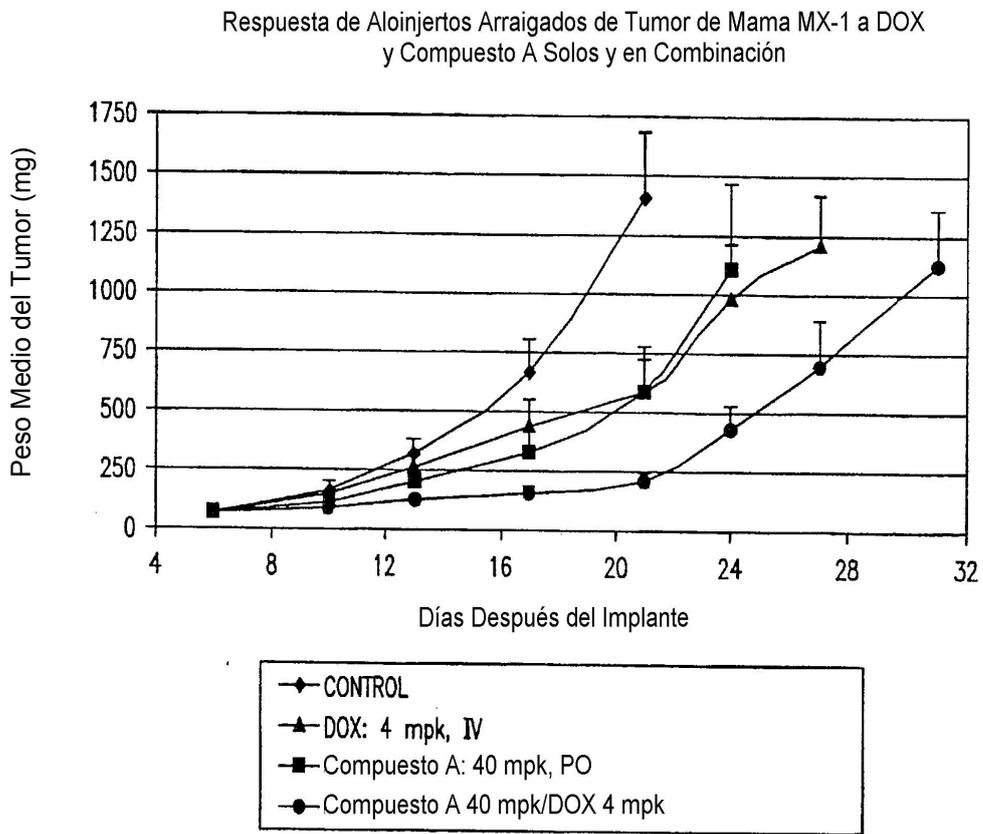


FIG. 4

Respuesta de Aloinjertos Arrraigados de Tumores de Pulmón A549 no microcíticos a Genfinitib y Compuesto A Solos y en Combinación

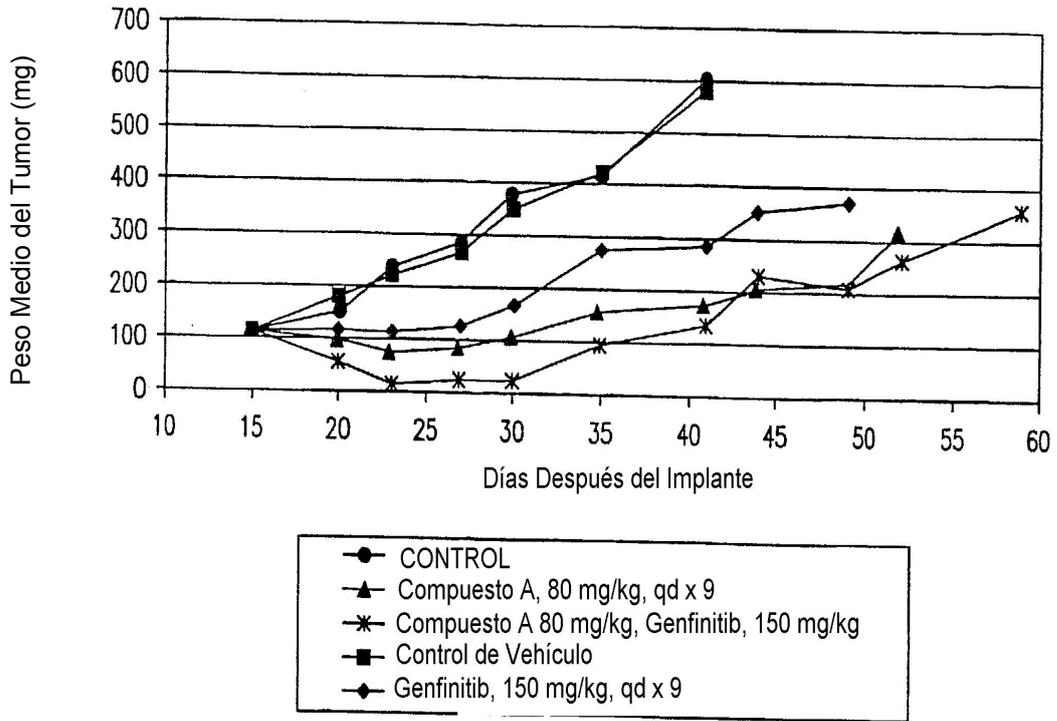


FIG. 5