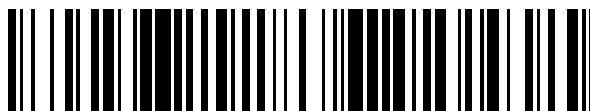


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 409 755**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/497** (2006.01) **A61K 39/395** (2006.01)  
**A61K 31/337** (2006.01) **C07D 403/06** (2006.01)  
**A61K 31/4164** (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)  
**A61K 31/4745** (2006.01) **A61K 45/06** (2006.01)  
**A61K 31/475** (2006.01)  
**A61K 31/675** (2006.01)  
**A61K 31/704** (2006.01)  
**A61K 31/7048** (2006.01)  
**A61K 31/7068** (2006.01)  
**A61K 33/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.12.2007 E 07860480 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.05.2013 EP 2127652**

54 Título: **Método para tratar el cáncer utilizando un agente anticanceroso combinado**

30 Prioridad:

**29.12.2006 US 882809 P**  
**19.07.2007 US 950771 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**27.06.2013**

73 Titular/es:

**ASTELLAS PHARMA INC. (100.0%)**  
**3-11, NIHONBASHI-HONCHO 2-CHOME CHUO-KU**  
**TOKYO 103-8411, JP**

72 Inventor/es:

**NAKAHARA, TAKAHITO;**  
**YAMANAKA, KENTARO;**  
**KITA, AYA y**  
**KOUTOKU, HIROSHI**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

**ES 2 409 755 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

Método para tratar el cáncer utilizando un agente anticanceroso combinado.

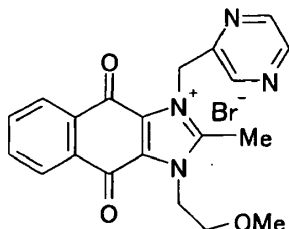
5 **Campo Técnico**

La presente invención se refiere a un medicamento, especialmente a una composición farmacéutica que comprende bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io como ingrediente activo para el tratamiento del cáncer en una terapia combinada con uno o más agentes anticancerosos distintos.

10 **TÉCNICA ANTERIOR**

La survivina es un miembro de la familia de proteínas IAP (Inhibidoras de la Apoptosis), y se expresa sumamente en todos los tipos de tumores primarios. La survivina no es detectable en la mayor parte de los tejidos diferenciados normales, pero está presente en placenta normal, testículo, y células que se dividen rápidamente tales como células pluripotenciales de médula ósea CD34+. La expresión elevada de survivina en los tumores se corresponde con una escasa supervivencia entre pacientes con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) [Ref. 1]. La supresión de la survivina induce la muerte de las células tumorales y vuelve las células sensibles a la regulación del ciclo celular normal [Ref. 2 - Ref. 4]. Dada su expresión preferente en células tumorales, su capacidad para bloquear la apoptosis y regular la proliferación de las células cancerosas, y su correlación con la escasa supervivencia, la survivina destaca como una nueva diana putativa para la terapia del cáncer. Se ha informado de que se ha demostrado que la regulación a la baja de la expresión de la survivina por el ARN antisentido o ARNip de la survivina sensibiliza las células tumorales frente a diferentes fármacos anticancerosos [Ref. 7 - Ref. 13].

Los derivados de imidazolio condensados fusionados que se espera que sean candidatos para agentes antitumorales que tienen una buena actividad antitumoral, una baja toxicidad y amplios márgenes de seguridad se describen en Publicaciones Internacionales [Ref. 5 y Ref. 6]. Concretamente, el bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io (en adelante YM155), mostrado por la siguiente fórmula, es un compuesto que se espera que sea útil como agente antitumoral, debido a que tiene una buena actividad inhibidora del crecimiento tumoral in vivo y una baja toxicidad.



YM155 es el primer compuesto encontrado que suprime específicamente la survivina y tiene potentes actividades antitumorales en modelos experimentales de xenoinjerto de cáncer de próstata refractario a tratamiento hormonal humano (CPRH) [Ref. 14], modelos de xenoinjerto de CPCNP humano [Ref. 15], y en pacientes con tumores sólidos y linfoma no Hodgkin avanzados (LNH) [Ref. 16 y Ref. 17]. YM155 mostró una actividad antitumoral dependiente del tiempo, y una infusión continua de 7 días de YM155 indujo una regresión tumoral en el modelo de xenoinjerto de CPCNP [Ref. 15]. YM155 causó pocos efectos secundarios, p. ej., disminución del peso corporal y toxicidades hematológicas que se observan frecuentemente en el tratamiento con paclitaxel, cisplatino y doxorubicina [Ref. 16 y Ref. 17]. Kita et al. (Annual Meeting of the Japan Cancer Association Kiji, Vol. 65, página 496, 2006) indican que YM155 ejerce una elevada actividad anti-cancerosa en una línea celular de cáncer de próstata resistente a tratamiento hormonal humano (CPRH) PC-3. Nakahara et al. (Annual Meeting of the Japan Cancer Association Kiji, Vol. 65, páginas 495-6, 2006) describen que YM155 suprime la expresión de la survivina en PC-3, sin ninguna influencia sobre los otros miembros de IAP o la expresión de BD-2, e induce la muerte celular de una manera dependiente de la dosis. Yamanaka et al. (Annual Meeting of the Japan Cancer Association Kiji, Vol. 65, página 496, 2006) describen que YM155 suprime la expresión de la survivina en un modelo tumoral, e induce una evidente muerte celular. Kazuhiko Nakagawa, Report of Shared Scientific Research Subvencionado por el Ministerio de Salud y Trabajo (para el Third General Anti-Cancer Strategic Research Project), 2006, Nen 4 Gatsu, páginas 29 a 30, describen la evaluación del tratamiento del cáncer de pulmón. El documento describe dos estudios. El primero indica que cuando la expresión del gen de la survivina era suprimida utilizando ARNip de survivina, se suprimía el crecimiento celular y se potenciaban la sensibilidad a la adriamicina y la sensibilidad a ultravioleta. El segundo estudio es un estudio de fase clínica I para una única preparación de YM155.

55 Clinical Science Symposio Slides: Dario C. Altieri, MD, Triggering Cell Death by Targeting TRAIL Receptor and Survivin, 2006 ASCO Annual Meeting comenta una prueba clínica de Fase I de YM155 e indica que YM155 es el primer antagonista de survivina de molécula pequeña.

En el documento JP2003128548 se describen composiciones que incluyen 3-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-1-(2-pirazinilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io para el tratamiento de tumores sólidos y linfomas, concretamente cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer renal, cáncer gástrico y similares.

5 En general, existe un límite para la eficacia de la quimioterapia para tumores, concretamente tumores malignos, cuando un agente anticanceroso se administra solo, a la vista de las reacciones adversas, y es bastante raro lograr un efecto anticanceroso suficiente. En la práctica clínica, por consiguiente, se ha empleado una terapia combinada de múltiples fármacos en la que se utilizan 2 o más especies combinadas de fármacos que tienen diferentes  
10 mecanismos de acción. Por medio de la terapia combinada, se pretende la reducción de las reacciones adversas del fármaco y la potenciación de la actividad anticancerosa combinando agentes anticancerosos que tienen diferentes mecanismos de acción, incluyendo 1) la reducción de la población de células no sensibles, 2) la prevención o el retraso de la aparición de resistencia a los fármacos, y 3) la dispersión de la toxicidad por medio de una combinación de fármacos que tienen diferentes toxicidades. Con la terapia combinada, sin embargo, una combinación al azar de  
15 agentes anticancerosos que tienen diferentes mecanismos de acción no proporciona necesariamente un efecto de potenciación de las actividades anticancerosas. De este modo, se han llevado a cabo estudios para obtener una combinación de agentes anticancerosos que tienen una acción anticancerosa mucho más elevada.

Los fármacos combinables representativos incluyen, por ejemplo, cisplatino y gemcitabina así como carboplatino y paclitaxel, que se conocen como una terapia combinada estándar para el cáncer de pulmón [Ref. 18 y Ref. 19]. Un estudio de fase II aleatorizado de terapias combinadas, R-ICE (rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido) y R-DHAP (rituximab, cisplatino, Citarabina (ara-C) y dexametasona) está en curso en pacientes con linfoma (LCBGD) [Ref. 20, 21 y 22]. Sasaki et al., *Ikaku no Ayami*, vol. 164/No.5, páginas 251-254 (1993) describen una combinación de fármacos para intensificar el efecto del 5-FU (5-fluorouracilo) en el tratamiento del cáncer. En el documento WO 2004/069274 se describe el uso de un antagonista de citoquina para la supresión de la expresión de proteínas  
20 inhibidoras de la apoptosis (IAP), incluyendo la survivina. El antagonista de citoquina se puede utilizar combinado con compuestos activos incluyendo cisplatino, paclitaxel, gemcitabina, Docetaxel o doxorubicina. En el documento WO 2005/042030 se describe que se puede administrar un oligómero de nucleobases antisentido de IAP incluyendo survivina combinado con diferentes agentes quimioterapéuticos, por ejemplo dacarbazina, cisplatino, gemcitabina, irinotecan, doxorubicina, paclitaxel, Docetaxel, rituximab y vinorelbina. En el documento JP 2003-521913 se describe un antisentido dirigido a la survivina y las terapias combinadas de la misma con agentes anti-cancerosos  
25 tales como dacarbazina, cisplatino, gemcitabina, irinotecan, doxorubicina y paclitaxel.

## REFERENCIAS

- 35 1. 1. Monzo M, et al., *J Clin Oncol* 1999; 17:2100-4.
2. 2. Giodini A, et al., *Cancer Res* 2002; 62:2462-7.
3. 3. Mesri M, et al., *Am J Pathol* 2001; 158:1757-65.
4. 4. Yamamoto T, et al., *Med Electron Microsc* 2001; 34:207-12.
5. 5. Folletos de la Publicación Internacional 01/60803
- 40 6. 6. Folletos de la Publicación Internacional 2004/092160
7. 7. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi*. 2005 Sep; 8(5):455-8
8. 8. *Cancer Lett*. 2006 Feb 8; 232(2):243-54
9. 9. *Blood*. 2006 Feb 15; 107(4):1555-63. Epub 2005 Oct 27
10. 10. *Int. J. Cancer*: 118, 812-20 (2006)
- 45 11. 11. *J Clin Invest*. 2001 Oct; 108(7):981-90.
12. 12. *Prostate* 65,10-19 (2005)
13. 13. *The Prostate* 64:293-302 (2005)
14. 14. *Proceedings AACR-NCI-EORTC 2005*, Resumen Núm. B203.
15. 15. *Proc Amer Assoc Cancer Res* 2006; 47:[ Resumen Núm. 5671]
- 50 16. 16. *Annals of Oncology*, 2006; 17(Supl. 3):23, Resumen Núm. O.403.
17. 17. *Journal of Clinical Oncology*, 2006: ASCO Annual Meeting Proceedings Parte I. Vol. 24, Núm. 18S (Junio 20 Suplemento), Resumen Núm. 3014.
18. 18. *Cancer*, 1996, 77:2458-63.
19. 19. *Cancer*, 2000, 89:1714-9.
- 55 20. 20. *Annals of Oncology*, 2006; 17(Supl. 4):iv31-2.
21. 21. *Blood*. 2006 May 15;103(10):3684-8. Epub 2004 Ener 22.
22. 22. *Leukemia & Lymphoma* 2007 May; 48(5):897-904.

## DESCRIPCION DE LA INVENCION

### 60 Problemas que va a Resolver la Invención

Cuando los fármacos de la combinación se utilizan juntos, existen muchos casos en los que aumentan los efectos secundarios, así como los efectos antitumorales. Por lo tanto, existen muchas dificultades al combinar dos o más

agentes antitumorales. Especialmente, se desea impacientemente una combinación de agentes anticancerosos con una acción anticancerosa sinérgica que de como resultado una marcada reducción de las células cancerosas y adicionalmente una completa eliminación de las células cancerosas, que conduzca a una curación completa del cáncer sin un incremento de los efectos secundarios.

### Medios para Resolver los Problemas

Los autores de la presente invención han encontrado que el uso combinado de bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io (YM155) con uno o varios agentes anticancerosos existentes, concretamente, rituximab, potencia inesperadamente el efecto anticanceroso. De este modo, se completó la presente invención.

Esto es, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io como ingrediente activo para su uso en el tratamiento del cáncer en una terapia combinada que comprende el uso de

1. i) rituximab (RTX), o
2. ii) una terapia combinada que comprende rituximab seleccionada entre R-ICE (que consiste en rituximab, ifosfamida (IFM), carboplatino y etopósido (ETP)), y R-DHAP (que consiste en rituximab, citarabina (ara-C) y cisplatino como agentes anticancerosos).

Normalmente, R-DHAP contiene dexametasona como agente para el tratamiento de las náuseas y los vómitos inducidos por la quimioterapia y además de los fármacos anticancerosos mencionados anteriormente.

En la invención, las composiciones preferibles son las siguientes:

1. (1) La composición para su uso como se ha descrito anteriormente, en donde la terapia combinada comprende el uso de rituximab.
2. (2) La composición para su uso como se ha descrito anteriormente, en donde la terapia combinada comprende el uso de una terapia combinada seleccionada entre R-ICE y R-DHAP.
3. (3) La composición para su uso como se describe en el apartado (2), en donde la terapia combinada comprende el uso de una terapia combinada R-ICE.
4. (4) La composición para su uso como se describe en el apartado (1) o (2), en donde la composición es para el tratamiento del linfoma.
5. (5) La composición para su uso como se ha descrito anteriormente, en donde la composición es una formulación para administrar bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io intravenosamente mediante infusión a una dosis de 1 - 10 mg/m<sup>2</sup>/día continuamente durante un período de 4 - 14 días.
6. (6) Una composición para su uso como se describe en el apartado (5), en donde la formulación es para la administración de bromuro de de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io intravenosamente mediante infusión a una dosis de 3 - 8 mg/m<sup>2</sup>/día continuamente durante 7 días, seguido de un descanso del medicamento de 14 días, dependiendo el ciclo de administración repetida mencionado de las condiciones.

La presente invención también hace referencia a las siguientes invenciones:

- (7) El uso de bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io para la producción de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se utiliza en una terapia combinada que comprende el uso de i) rituximab, o ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE y R-DHAP.
- (8) Un agente para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende como ingrediente activo bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io, en donde el agente se utiliza en una terapia combinada que comprende el uso de i) rituximab, o ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE y R-DHAP.
- (9) Un potenciador de un efecto anticanceroso de i) rituximab, o ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE y R-DHAP, en donde el potenciador comprende bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io como ingrediente activo.

### BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

La Figura 1 contiene gráficos que muestran los resultados de los Ejemplos Comparativos 1 y 2 en los que se administró YM155 combinado con Docetaxel. (a) - (c) son gráficos que muestran el volumen tumoral (mm<sup>3</sup>) del Ejemplo Comparativo 1, Ejemplo Comparativo 2B) y Ejemplo Comparativo 2A); (d) - (f) son gráficos que muestran respectivamente el peso corporal (g) en el Ejemplo Comparativo 1, Ejemplo Comparativo 2B) y Ejemplo Comparativo 2A).

La Figura 2, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y carboplatino (CBDCA) en el Ejemplo Comparativo 3, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente. (c) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y cisplatino (CDDP) en el Ejemplo Comparativo 3, y (d) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

La Figura 3, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y gemicitabina (GEM) en el Ejemplo Comparativo 3, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente. (c) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y vinorelbina (VIN) en el Ejemplo Comparativo 3, y (d) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

La Figura 4, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y doxorubicina (DXR) en el Ejemplo Comparativo 3, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente. (c) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 e irinotecan (CPT-11) en el Ejemplo Comparativo 3, y (d) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

La Figura 5, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y paclitaxel (TXL) en el Ejemplo Comparativo 3, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

La Figura 6, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y Dacarbazina (DTIC) en el Ejemplo Comparativo 4, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

La Figura 7, (a) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y R-ICE (RICE) en el Ejemplo de Ensayo 5, y (b) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente. Y (c) muestra el volumen tumoral medio ( $\text{mm}^3$ ) a partir de la administración simultánea de YM155 y Rituximab (RTX) en el Ejemplo de Ensayo 5, y (d) muestra el peso corporal medio (g), respectivamente.

#### MEJOR MODO DE LLEVAR A CABO LA INVENCIÓN

A continuación se describe la invención con detalle.

El YM155 utilizado en la invención es fácilmente asequible de acuerdo con los procesos de producción descritos en la Publicación Internacional 01/60803 y en la Publicación Internacional 2004/092160.

El YM155 se puede administrar oralmente o parenteralmente, y preferiblemente intravenosamente. En este contexto, la preparación inyectable para la administración intravenosa incluye aquellas que contienen soluciones, suspensiones, y emulsiones acuosas o no acuosas estériles. El disolvente acuoso incluye, por ejemplo, agua destilada para inyectables y solución salina fisiológica. El disolvente no acuoso incluye, por ejemplo, propilenglicol, polietilenglicol, aceites vegetales tales como aceite de oliva, alcoholes tales como etanol, polisorbato 80 (nombre comercial), y similares. Tales composiciones pueden contener adicionalmente agentes para el ajuste de la tonicidad, antisépticos, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes, estabilizadores, y agentes solubilizantes. Estas se pueden esterilizar, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de bacterias, combinación de esterilizadores o irradiación. Alternativamente, es posible preparar una composición sólida libre de gérmenes y disolverla o suspenderla en agua estéril o un disolvente estéril para inyectables inmediatamente antes de su uso.

En la administración intravenosa, se puede administrar YM155 normalmente a  $0,1 - 20 \text{ mg/m}^2/\text{día}$ , preferiblemente a  $1 - 10 \text{ mg/m}^2/\text{día}$ , una vez al día o dividido en dosis plurales, o continuamente mediante infusión (instilación continua). Preferiblemente, se puede infundir a  $3 - 10 \text{ mg/m}^2/\text{día}$  continuamente durante un periodo de 4 días a 20 días, más preferiblemente 4 días a 14 días, o 5 días, 7 días, 10 días o 14 días, y aún más preferiblemente infundir continuamente durante 7 días. Cuando la administración se prolonga más, es preferible emplear un ciclo de medicación que comprenda un período de descanso del fármaco de 1 día a 2 meses, preferiblemente 7 días a 21 días, más preferiblemente 14 días, después de la terminación del período anterior de medicación. En una realización particularmente preferida, se puede administrar continuamente mediante infusión a una dosis de  $3 - 8 \text{ mg/m}^2/\text{día}$  durante 7 días, seguido de un período de descanso del fármaco de 14 días; este ciclo, como ciclo unitario, se repite dependiendo de las condiciones. Cuando un agente anticanceroso utilizado combinado tiene un ciclo de medicación concreto, es preferible establecer un ciclo de medicación para YM155 y dicho agente anticanceroso de manera que se logre la potenciación. Específicamente, la frecuencia de administración, la dosificación, el tiempo de infusión, el ciclo de medicación, y similares, se pueden determinar apropiadamente de acuerdo con los casos individuales tomando en consideración la clase de agente anticanceroso, el estado de los pacientes, la edad, el sexo, etc.

La siguiente tabla enumera los agentes anticancerosos existentes adecuados para su uso combinado con YM155, junto con las principales indicaciones de cáncer. Los cánceres indicados para estos agentes anticancerosos en la terapia combinada de la invención no se limitan a estos cánceres.

**[Tabla 1]**

Agente Anticanceroso		Indicaciones Principales de Cáncer
Carboplatino	CBDCA	cáncer de colon, cáncer de pulmón
Cisplatino	CDDP	cáncer de colon, cáncer de pulmón
Paclitaxel	TXL	cáncer de pulmón, cáncer de ovario
Vinorelbina	VNR	cáncer de pulmón
Gemcitabina	GEM	cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de colon
Irinotecan	CPT-11	cáncer de colon
Docetaxel	TXT	cáncer de próstata, cáncer de pulmón
Doxorrubicina	DXR	cáncer de vejiga
Dacarbazina	DTIC	melanoma maligno
Rituximab	RTX	linfoma no Hodgkin de células B CD20 positivas
Ifosfamida	IFM	Quimioterapia de tercera línea de cáncer testicular de células germinales cuando se utiliza combinada con otros ciertos agentes anti-neoplásicos aprobados
Etopósido	ETP	Combinado con otros agentes quimioterapéuticos aprobados como tratamiento de primera línea en pacientes con cáncer de pulmón de células pequeñas.
Citarabina	ara-C	Leucemia

Los agentes anticancerosos anteriormente mencionados ya han sido utilizados clínicamente, y su ruta de administración, ciclo de administración, y dosis son evidentes para el experto en la técnica. La dosificación y la administración apropiadas son diferentes dependiendo de la especie de cáncer, las condiciones y los agentes de la combinación. Se encuentra disponible una información detallada en una variedad de bases de datos proporcionadas por la FDA, por ejemplo, "Approved Oncology Drugs" (<http://www.fda.gov/cder/cancer/approved.htm>), "Orange Book" (<http://www.fda.gov/cder/orange/default.htm>), o a partir de la información en páginas de Internet proporcionadas por Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan (<http://www.info.pmda.go.jp/>). La información sobre los agentes anticancerosos almacenada en estas bases de datos se incorpora como en la presente memoria en esta invención.

Por ejemplo, de acuerdo con las páginas proporcionadas por Pharmaceuticals and Medical Devices Agency of Japan, el prospecto de TAXÓTERO inyectable (nombre comercial registrado; nombre comercial del Docetaxel) describe la dosificación y administración de Docetaxel como sigue: "1. cáncer de mama, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer gástrico, cáncer de cabeza y cuello; dosificación y administración para cada indicación; 1. normalmente, inyectado intravenosamente mediante infusión a una dosis de 60 mg/m<sup>2</sup> como Docetaxel para un adulto a lo largo de 1 hora una vez al día a intervalos de 3 - 4 semanas. La dosificación se puede incrementar o disminuir dependiendo de la afección, pero la dosis más alta es de hasta 70 mg/m<sup>2</sup> a de una vez". Y el prospecto de RITUXAN Inyectable (nombre comercial registrado; nombre comercial de rituximab) describe lo siguiente: "dosificación y administración: linfoma no Hodgkin de células B CD20 positivas; dosificación y administración 1. La dosificación recomendada para un adulto de rituximab (recombinación genética) (JAN) es de 375 mg/m<sup>2</sup> por dosis,

administrados en forma de infusión IV una vez a la semana. Se supone que la frecuencia de administración máxima es de ocho veces".

Lo siguiente es un extracto parcial de la Dosificación y Administración referente a cada agente anticanceroso en "Approved Oncology Drugs". Para la administración práctica, se apreciará naturalmente que se debe tomar en consideración la información completa.

Docetaxel: "Cáncer de Mama: La dosis recomendada de TAXÓTERO es de 60-100 mg/m<sup>2</sup> administrados intravenosamente a lo largo de 1 hora cada 3 semanas. Cáncer de Pulmón de Células No Pequeñas: La dosis recomendada de TAXÓTERO es de 75 mg/m<sup>2</sup> administrados intravenosamente a lo largo de 1 hora cada 3 semanas."

Carboplatino: "Terapia con agente solo: se ha demostrado que PARAPLATIN (nombre comercial de carboplatino), en forma de un único agente, es eficaz en pacientes con carcinoma de ovario recurrente a una dosificación de 360 mg/m<sup>2</sup> I.V. el día 1 cada 4 semanas".

Cisplatino: "Cáncer de Vejiga Avanzado: PLATINOL-AQ (nombre comercial de cisplatino inyectable) debe ser administrado en forma de un único agente a una dosis de 50-70 mg/m<sup>2</sup> I.V. por ciclo una vez cada 3 a 4 semanas dependiendo del grado de exposición previa a terapia con radiación y/o quimioterapia previa".

Paclitaxel: "En pacientes previamente tratados con quimioterapia para cáncer de ovario, el régimen recomendado es TAXOL (nombre comercial de paclitaxel) a 135 mg/m<sup>2</sup> o 175 mg/m<sup>2</sup> administrado intravenosamente a lo largo de 3 horas cada 3 semanas. Para pacientes con carcinoma de mama, se ha demostrado que TAXOL a una dosis de 175 mg/m<sup>2</sup> administrado intravenosamente a lo largo de 3 horas cada 3 semanas es eficaz tras el fracaso de la quimioterapia para enfermedad metastásica o recaída en un plazo de 6 meses de quimioterapia coadyuvante".

Vinorelbina: "La dosis inicial usual de NAVELBINA (nombre comercial de vinorelbina) es de 30 mg/m<sup>2</sup> administrados semanalmente. El método de administración recomendado es una inyección intravenosa a lo largo de 6 a 10 minutos".

Gemcitabina: "GEMZAR (nombre comercial de gemcitabina) es solamente para uso intravenoso. Uso del Agente Individual en Adultos: Cáncer Pancreático – se debe administrar mediante infusión intravenosa a una dosis de 1000 mg/m<sup>2</sup> a lo largo de 30 minutos una vez a la semana hasta un máximo de 7 semanas (o hasta que la toxicidad requiere reducir o mantener una dosis), seguido de una semana de descanso del tratamiento. Los ciclos posteriores deben consistir en infusiones una vez a la semana durante 3 semanas consecutivas cada 4 semanas". Irinotecan:

"Dosis de partida y Programa de Dosificación Semanal para las Modificaciones de la Dosis: La dosis de partida usual recomendada de CAMPTOSAR Inyectable (nombre comercial de Irinotecan inyectable) es de 125 mg/m<sup>2</sup>. En pacientes con un historial combinado de irradiación pélvica/abdominal previa y niveles de bilirrubina total en suero modestamente elevados (1,0 a 2,0 mg/dL) antes del tratamiento con CAMPTOSAR, puede haber un aumento de la probabilidad de neutropenia de grado 3 o 4. Todas las dosis se deben administrar en forma de una infusión intravenosa a lo largo de 90 minutos. El régimen de tratamiento recomendado (en el transcurso de un tratamiento) es un tratamiento una vez a la semana durante 4 semanas, seguido de un período de descanso de 2 semanas".

Doxorrubicina: "En pacientes con Cáncer de Ovario se debe administrar Doxil (nombre comercial de doxorrubicina HCl inyectable con liposomas) se les debe administrar intravenosamente a una dosis de 50 mg/m<sup>2</sup> (equivalente a doxorrubicina HCl) a una velocidad inicial de 1 mg/min para minimizar el riesgo de reacciones a la infusión. Si no se observan EA relacionados con la infusión, se puede incrementar la velocidad de infusión para completar la administración del fármaco a lo largo de una hora. Se debe administrar la dosis al paciente una vez cada 4 semanas, mientras el paciente no progrese, muestre evidencia de cardiotoxicidad, y continúe tolerando el tratamiento. Se recomienda un mínimo de 4 cursos debido a que el tiempo medio de respuesta en las pruebas clínicas fue de 4 meses".

Dacarbazina "Melanoma Maligno: La dosificación recomendada es de 2 a 4,5 mg/kg/día durante 10 días. El tratamiento se puede repetir a intervalos de 4 semanas. 2 Una dosificación recomendada alterna es de 250 mg/metro cuadrado de superficie corporal/día I.V. durante 5 días. El tratamiento se puede repetir cada 3 semanas".

Rituximab: La dosificación recomendada de RITUXAN (nombre comercial de rituximab) es de 375 mg/m<sup>2</sup> suministrado como infusión IV una vez a la semana durante cuatro dosis (días 1, 8, 15, y 22).

Ifosfamida: IFEX (nombre comercial de ifosfamida) se debe administrar intravenosamente a una dosis de 1,2 g/m<sup>2</sup> por día durante 5 días consecutivos.

Etopósido: En cáncer de pulmón de células pequeñas, la dosis de VePesid Inyectable combinado con otros fármacos quimioterapéuticos aprobados oscila de 35 mg/m<sup>2</sup>/día durante 4 días a 50 mg/m<sup>2</sup>/día durante 5 días.

Citarabina: En la terapia de inducción de la leucemia no linfocítica aguda, la dosis de citarabina usual combinada con otros fármacos anticancerosos es de 100 mg/m<sup>2</sup>/día mediante infusión IV continua (días 1 a 7) o 100 mg/m<sup>2</sup> IV cada 12 horas (días 1 a 7). Con respecto a R-ICE y R-DHAP, se encuentra disponible información detallada en las referencias de otras pruebas clínicas siguientes:

R-ICE (Blood. 2006 May 15; 103(10):3684-8): Rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>) se administra el día 1 de cada ciclo y 48 horas antes del inicio del primer ciclo de ICE. La quimioterapia con ICE se administra con hospitalización comenzando el día 3 de cada ciclo. El Etopósido (100 mg/m<sup>2</sup>) se administra en forma de embolada intravenosa diariamente durante 3 días, los días 3 a 5. El Carboplatino con CAP a 800 mg se administra en forma de infusión en embolada el día 4.

Ifosfamida (5000 mg/m<sup>2</sup>), mezclada con una cantidad igual de mesna, se administró en forma de infusión intravenosa continua a lo largo de 24 horas comenzando el día 4.

R-DHAP (Blood. 1988 Enero; 71:117-22, Leukemia & Lymphoma 2007 Mayo; 48(5):897-904): Rituximab (375 mg/m<sup>2</sup>) se administra el día 1 de cada ciclo y 48 horas antes del inicio del primer ciclo de DHAP. El Cisplatino (100 mg) se administra en forma de infusión intravenosa continua a lo largo de 24 horas comenzando el día 1. La Citarabina (2000 mg/m<sup>2</sup>) se administra en forma de embolada intravenosa dos veces al día el día 2. Adicionalmente, con el fin de controlar las náuseas y vómitos inducidos por la quimioterapia, se administra dexametasona (40 mg/m<sup>2</sup>) en forma de embolada intravenosa diariamente durante 3 días, los días 1 a 4.

Al utilizar la terapia combinada de la presente invención, se puede proporcionar la misma dosis que se proporciona habitualmente como agente individual o se puede proporcionar una dosis ligeramente reducida (por ejemplo, 0,10 – 0,99 veces la dosis máxima como agente individual) por medio de una ruta de administración normal. En el caso de un agente anticanceroso que se administra en un cierto ciclo de administración, el ciclo se puede ajustar apropiadamente con el fin de adecuarlo al uso combinado con YM155. Específicamente, la frecuencia de administración, dosificación, tiempo de infusión, ciclo de medicación, y similares se pueden determinar apropiadamente de acuerdo con los casos individuales considerando el estado de los pacientes, la edad, el sexo, etc.

El modo de la medicación en la administración combinada de YM155 y un agente anticanceroso no está particularmente limitado siempre que la se seleccionen apropiadamente una ruta de administración, una frecuencia de administración y una dosificación adecuadas. Por ejemplo, (1) la administración de una composición que contiene YM155 y un agente anticanceroso, esto es, en forma de una sola preparación, (2) la administración combinada de 2 especies de preparaciones preparadas por separado a partir de YM155 y un agente anticanceroso, respectivamente, por medio de la misma ruta de administración; (3) la administración con una diferencia en el intervalo de tiempo de 2 especies de preparaciones preparadas por separado de YM155 y un agente anticanceroso, respectivamente, por medio de la misma ruta de administración (por ejemplo, YM155 se administra primero, y después un agente anticanceroso, o viceversa); (4) la administración combinada de 2 especies de preparaciones preparadas por separado de YM155 y un agente anticanceroso, respectivamente, por medio de diferentes rutas de administración; y (5) la administración con una diferencia en el intervalo de tiempo de 2 especies de preparaciones preparadas por separado de YM155 y un agente anticanceroso, respectivamente, por medio de rutas de administración diferentes (por ejemplo, YM155 se administra primero, y después un agente anticanceroso, o viceversa). En una realización preferida de administración combinada de la presente invención, el YM155 y otro agente anticanceroso se formulan por separado, y los dos tipos resultantes de preparaciones se administran concomitantemente (incluyendo parcialmente concomitantemente) o en un intervalo de tiempo por medio de una ruta de administración adecuada para cada preparación y con una frecuencia de administración apropiada. En la administración con una diferencia en el intervalo de tiempo, es necesario administrar las preparaciones en un intervalo de tiempo que satisfaga la potenciación del efecto anticanceroso. Preferiblemente, la segunda preparación se administra en el plazo de 2 semanas, más preferiblemente 7 días, aún más preferiblemente 3 días, después de la administración de la primera preparación. Cuando existe un interés en la interacción fármaco-fármaco entre el YM155 y otro agente anticanceroso, resulta apropiado administrarlos en un intervalo requerido para evitar semejante interacción.

Como se muestra en los Ejemplos de Ensayo, se encontró que el efecto terapéutico sobre el cáncer resultaba potenciado por la terapia combinada de YM155 y un agente anticanceroso existente. El efecto se confirmó mediante la reducción significativa del volumen del tumor en comparación con la respectiva aplicación individual de YM155 o un agente anticanceroso existente. Por otra parte, el peso corporal fue igual al de la administración de un agente anticanceroso existente como único agente, indicando que posiblemente no hay ningún cambio en las reacciones adversas con el uso combinado. Por lo tanto, se encontró que el uso combinado de YM155 y un agente anticanceroso existente potencia una acción anticancerosa sin cambios en las reacciones adversas, dando como resultado un efecto terapéutico para el cáncer satisfactorio.

En un ensayo preliminar utilizando un modelo animal al cual se había transplantado otro tipo de cáncer, p. ej., cáncer de próstata (PC-3), se administró un agente anticanceroso de tipo taxano, Docetaxel o paclitaxel, combinado con YM155. Como resultado, se potenció la acción anticancerosa en comparación con la administración de los respectivos agentes individuales y el volumen del tumor se redujo bien. Esto sugiere que el uso combinado de YM155 potencia la acción anticancerosa de los agentes anticancerosos existentes e induce un buen efecto terapéutico no limitado por las clases de cáncer. Además, se ha descubierto en las referencias citadas anteriormente Núm. 14 a 17 que YM155 *per se* muestra una potente acción anticancerosa sobre una variedad de cánceres en los cuales está implicada la survivina. Estos descubrimientos demuestran que el método de la invención para el tratamiento de cánceres por medio de la administración combinada de YM155 y un agente anticanceroso existente, en el que el efecto inhibitor de YM155 sobre la expresión de la survivina y el efecto anticanceroso del agente anticanceroso existente funcionan sinérgicamente, permite un alto efecto terapéutico para el cáncer y se puede aplicar al tratamiento de una variedad de cánceres. En particular, puesto que YM155 tiene un nuevo mecanismo de acción que funciona inhibiendo la expresión de la survivina, es útil en el tratamiento de clases de cánceres que son resistentes a agentes anticancerosos existentes.



5 Los agentes anticancerosos utilizados combinados con YM155 incluyen, preferiblemente, aquellos utilizados normalmente contra una clase objetiva de cáncer, concretamente aquellos utilizados en la terapia convencional. Por ejemplo, se incluyen R-ICE y R-DHAP para el linfoma. Se espera que el uso combinado de YM155 además de estos agentes anticancerosos utilizados en la terapia convencional, potencie el efecto terapéutico para los cánceres de la clase objetiva de cánceres.

**EJEMPLOS**

10 A continuación se muestran los resultados de los ensayos farmacológicos que indican la utilidad del uso combinado de la invención.

**Ejemplo Comparativo 1:**

15 **1) Compuestos de Ensayo**

Los niveles de dosificación se expresan en términos de YM155, el radical catiónico del fármaco. El Docetaxel hidrato (Taxótero® INYECTABLE) se adquirió de Sanofi-Aventis Pharma Ltd. (West Lavel, FRA) y se utilizó como el Docetaxel.

20 **2) Preparación de los Compuestos de Ensayo**

25 El YM155 se disolvió y se diluyó con solución salina fisiológica con el fin de preparar soluciones de dosificación (concentraciones calculadas utilizando la siguiente formulación: dosis x peso corporal medio para cada grupo / volumen de liberación diario). Estas disoluciones se prepararon inmediatamente antes de la implantación de una bomba osmótica (Alzet® modelo 1007D Micro-Osmotic Pump, DURECT Co., CA, USA) en los sujetos del ensayo. Las disoluciones se cargaron después en la bomba. El Docetaxel se diluyó con solución salina fisiológica para preparar disoluciones de 2 mg/mL inmediatamente antes de la administración.

30 **3) Células**

35 Se obtuvo la línea celular de carcinoma de pulmón humano Calu 6 (HTB-56, Lote Núm. 208280) de la Colección de Cultivos Tipo Americana (VA, USA). Las células se cultivaron a 37°C en atmósfera con 5% de CO<sub>2</sub> en medio RPMI 1640 con un suplemento de suero bovino fetal inactivado con calor al 10%. Las células se recogieron con tripsina, se suspendieron en PBS a 6 x 10<sup>7</sup> células/mL, y después se mezclaron con un volumen equivalente de Matrigel® Basement Membrane Matrix (Becton Dickinson Co., Bedford, MA, USA).

**4) Animales**

40 Se adquirieron ratones carentes de sistema inmunitario, macho, de cinco semanas de edad (CAnN.Cg-Foxn1nu/CrIcrlj(nu/nu)) de Charles River Laboratories Japan, Inc (Kanagawa, Japón). Se mantuvieron con una dieta convencional y agua durante todos los experimentos en condiciones libres de patógenos específicas. Las células se cultivaron in vitro y se injertaron 3 x 10<sup>6</sup> células/0,1 mL/ratón subcutáneamente en el flanco de ratones carentes de sistema inmunitario de 6 semanas. Los ratones con volúmenes tumorales (longitud x anchura<sup>2</sup> x 0,5) de 97,3 a 182,7 mm<sup>3</sup> se dividieron en grupos. Esto se realizó utilizando el programa SAS con el fin de minimizar la variación del volumen tumoral intragrupo e intergrupo.

**5) Administración y Medición**

50 El primer día de administración se denominó día 0, y la observación continuó hasta el día 35. Cada grupo (n=8) se trató como sigue.

Grupo de control con Vehículo	Vehículo
Grupo con YM155	YM155 2 mg/kg/día (7-días infusión sc continua)
Grupo con Docetaxel	Docetaxel 20 mg/kg/día (embolada iv el día 0, 4, y 8)
Grupo Combinado	YM155 2 mg/kg/día + Docetaxel 20 mg/kg/día

Para la infusión sc continua durante 7 días, se implantó una bomba osmótica que contenía YM155 o solución salina fisiológica, en el dorso de cada animal mientras estaba bajo anestesia. El grupo con vehículo de control recibió una infusión sc continua de 7 días de solución salina fisiológica empezando el día 0, e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 0, 4 y 8. El grupo con YM155 recibió infusión sc continua durante 7 días de YM155 a 2 mg/kg/día comenzando el día 0, e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 0, 4 y 8. El grupo con Docetaxel recibió inyección en embolada iv de Docetaxel a 20 mg/10 mL/kg los días 0, 4 y 8, así como una infusión sc continua durante 7 días de solución salina fisiológica comenzando el día 0. El grupo combinado recibió ambos compuestos en lugar del vehículo, de un modo similar a los grupos con YM155 y Docetaxel.

Se midieron el peso corporal y el diámetro tumoral cada 3-4 días utilizando calibres, y se determinó el volumen tumoral calculando el volumen de un elipsoide utilizando la fórmula: longitud × anchura<sup>2</sup> × 0,5. Las actividades antitumorales se expresan como el porcentaje de inhibición del crecimiento del tumor (% inh) y el porcentaje de regresión del tumor (% reg). Se calculó el porcentaje de inhibición el día 35 para cada grupo utilizando la siguiente fórmula:  $100 \times [1 - \{(\text{volumen tumoral medio de cada grupo el día 35}) - (\text{volumen tumoral medio de cada grupo el día 0})\} / \{(\text{volumen tumoral medio del grupo de control el día 35}) - (\text{volumen tumoral medio del grupo de control el día 0})\}]$ .

El porcentaje de regresión del tumor se calculó para todos los grupos en los que se había observado regresión del tumor, utilizando la siguiente fórmula:  $100 \times \{1 - (\text{volumen tumoral medio de cada grupo el día 35}) / (\text{volumen tumoral medio de cada grupo el día 0})\}$ . Se verificó el número de Regresiones Completas (RC) en todos los grupos durante el período experimental. La RC viene definida por los casos en los que la carga tumoral cae por debajo del límite de palpación.

## 6) Análisis Estadístico

Los valores se expresan como la media ± el error típico de la media (ETM). Se compararon el volumen del tumor y el peso corporal el día 35 entre el grupo con el compuesto individual y el grupo combinado utilizando la prueba de la t de Student. Los valores de P menores de 5% se consideran significativos. Se utilizó el programa SAS para el procesamiento de los datos.

## 7) RESULTADOS

Se administró YM155 concomitantemente con Docetaxel, y se examinó la actividad antitumoral. La combinación de YM155 a 2 mg/kg/día y Docetaxel a 20 mg/kg/día inhibió completamente el crecimiento tumoral (>100%), e indujo una regresión completa en todos los casos el día 35 (Tabla 2 y Figura 1-(a)\*). El tratamiento con YM155 solo inhibió el crecimiento tumoral un 99% el día 35. El Docetaxel también mostró una inhibición completa (>100%) del crecimiento tumoral, e indujo una regresión tumoral de 52% el día 35. Durante las 5 semanas de observación, el grupo de tratamiento con YM155 o Docetaxel mostró una regresión tumoral durante las dos primeras semanas que estuvo seguida de un recrecimiento tumoral sucesivo durante las últimas semanas. Por otra parte, el YM155 combinado con Docetaxel mostró una regresión completa de los tumores en todos los casos. No se observó un descenso estadísticamente significativo en el peso corporal en el grupo combinado en comparación con el grupo con Docetaxel (Figura 1-(d)).

[Tabla 2]

Grupos de Tratamiento	Volumen Tumoral (mm <sup>3</sup> )		Peso Corporal (g)	Actividad Antitumoral (%inh/%reg)	Número de Regresiones Completas
	día 0	día 35	día 35		
Vehículo Control	120,9 ± 7,0	2848,0 ± 185,1	26,56 ± 0,56	---	0/8
YM155	121,4 ± 6,9	142,3 ± 16,9	26,13 ± 0,56	99%	0/8
Docetaxel	121,4 ± 7,0	58,0 ± 20,4	24,95 ± 0,54	>100% / 52%	0/8
YM155 + Docetaxel	121,1 ± 7,2	0,0 ± 0,0 ***	24,11 ± 0,66* <sup>N.S.</sup>	>100% / 100%	8/8

Los valores se expresan como la media ± ETM (n=8). \*: P<0,05, una diferencia significativa del grupo combinado frente al grupo con Docetaxel. ##: P<0,01 y #: P<0,05, diferencias significativas del grupo combinado versus el grupo con YM155. N.S.: no significativo del grupo con Docetaxel (prueba de la t de Student).

## 8) DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio indican que YM155 potencia significativamente la actividad antitumoral del Docetaxel sin un incremento en la toxicidad sistémica, que se pone de manifiesto a través de síntomas observables tales como

la pérdida de peso corporal. Los resultados también sugieren que el YM155 combinado con Docetaxel es tolerado en ratones, y que constituye una combinación potente para el tratamiento del cáncer.

**Ejemplo Comparativo 2**

5 El siguiente estudio se llevó a cabo del mismo modo que el Ejemplo Comparativo 1 excepto por el la sincronización de la administración.

10 A) El primer día de administración se designó día 0, y la observación continuó hasta el día 35. Cada grupo (n=8) se trató como sigue.

Grupo de control con Vehículo	Vehículo
Grupo con YM155	YM155 2 mg/kg/día (7 días infusión sc continua)
Grupo con Docetaxel	Docetaxel 20mg/kg/día (embolada iv el día 7, 11, y 15)
Grupo combinado	YM155 2 mg/kg/día → Docetaxel 20 mg/kg/día

15 Para la infusión sc continua durante 7 días, se implantó una bomba osmótica que contenía YM155 o solución salina fisiológica, en el dorso de cada animal mientras se encontraba bajo anestesia. El grupo con vehículo de control recibió una infusión sc continua durante 7 días de solución salina fisiológica comenzando el día 0, e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 7, 11 y 15. El grupo con YM155 recibió una infusión sc continua durante 7 días de YM155 a 2mg/kg/día empezando el día 0 e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 7, 11 y 15. El grupo con Docetaxel recibió inyección en embolada iv de Docetaxel a 20mg/10mL/kg los días 7, 11 y 15, así como infusión sc continua durante 7 días de solución salina fisiológica comenzando el día 0. El grupo combinado recibió ambos compuestos en lugar del vehículo, de un modo similar a los grupos con YM155 y Docetaxel.

**RESULTADOS**

25 El Docetaxel se administró después de la administración de YM155, y se examinó la actividad antitumoral. La combinación de YM155 a 2 mg/kg/día con Docetaxel a 20 mg/kg/día inhibió completamente el crecimiento tumoral (>100%), e indujo una regresión completa en un 99% el día 35 (Tabla 3 y Figura 1-(c)). El tratamiento con YM155 solo inhibió el crecimiento tumoral en un 99% el día 35. El Docetaxel también mostró una inhibición completa (>100%) del crecimiento tumoral, e indujo una regresión del tumor en un 10% el día 35. Durante las 5 semanas de observación, el grupo con YM155 o Docetaxel mostró regresión tumoral durante las primeras dos semanas, que estuvo seguida de un recrecimiento tumoral sucesivo durante las últimas semanas. Por otra parte, el grupo combinado de YM155 con Docetaxel mostró regresión tumoral en todos los casos y una regresión completa de los tumores en 7 casos de 8 casos, y el efecto anticanceroso se potenció significativamente ( $P<0,01$ ) en comparación con cada uno de los grupos de tratamiento con un solo compuesto. No se observó un descenso estadísticamente significativo en el peso corporal en el grupo combinado en comparación con el grupo con Docetaxel (Figura 1-(f)).

[Tabla 3]

Grupos de Tratamiento	Volumen del Tumor (mm <sup>3</sup> )		Peso Corporal (g)	Actividad Antitumoral (% inh/% reg)	Número de RC
	día 0	día 35	día 35		
Vehículo Control	208,5 ± 18,6	4237,0 ± 545,7	25,88 ± 0,70	---	0/8
YM155	208,5 ± 18,6	251,8 ± 50,7	26,25 ± 0,25	99% / -	0/8
Docetaxel	209,1 ± 18,3	188,8 ± 29,1	21,03 ± 0,94	>100% / 10%	0/8
YM155→Docetaxel	208,6 ± 18,1	1,3 ± 1,3 **.#	24,13 ± 0,78*.#	>100% / 99%	7/8

40 Los valores se expresan como la media ± ETM (n=8). \*\*:  $P<0,01$  y \*:  $P<0,05$ , diferencias significativas del grupo combinado frente al grupo con Docetaxel. #:  $P<0,05$ , diferencias significativas del grupo combinado frente al grupo con YM155. (Prueba de la t de Student).

B) El primer día de administración se designó día 0, y la observación continuó hasta el día 35. Cada grupo (n=8) se trató como sigue.

Grupo de control con Vehículo	Vehículo
Grupo con YM155	YM155 2 mg/kg/día (7 días infusión sc continua)
Grupo con Docetaxel	Docetaxel 20 mg/kg/día (embolada iv el día 0, 4, y 8)
Grupo Combinado	Docetaxel 20 mg/kg/día → YM155 2 mg/kg/día

5 Para la infusión sc continua durante 7 días, se implantó una bomba osmótica que contenía YM155 o solución salina fisiológica, en el dorso de cada animal mientras se encontraba bajo anestesia. El grupo de control con vehículo recibió una infusión sc continua de 7 días de solución salina fisiológica comenzando el día 8, e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 0, 4 y 8. El grupo con YM155 recibió una infusión sc continua durante 7 días de YM155 a 2 mg/kg/día comenzando el día 8, e inyección en embolada iv de solución salina fisiológica los días 0, 4 y 8. El grupo con Docetaxel recibió inyección en embolada iv de Docetaxel a 20 mg/10 mL/kg los días 0, 4 y 8, así como una infusión sc continua durante 7 días de solución salina fisiológica comenzando el día 8. El grupo combinado recibió ambos compuestos en lugar del vehículo, de un modo similar a los grupos con YM155 y Docetaxel.

## 15 RESULTADOS

El YM155 se administró después de la administración de Docetaxel, y se examinó la actividad antitumoral. La combinación de YM155 a 2 mg/kg/día con Docetaxel a 20 mg/kg/día inhibió completamente el crecimiento del tumor (>100%), e indujo una regresión completa en un 97% el día 35 (Tabla 4 y Figura 1-(b)). El tratamiento con YM155 solo inhibió el crecimiento tumoral en un 61% el día 35. El Docetaxel también mostró una inhibición completa (>100%) del crecimiento tumoral, e indujo una regresión del tumor en un 68% el día 35. Durante las 5 semanas de observación, el grupo de tratamiento con YM155 o Docetaxel mostró un recrecimiento tumoral durante las últimas semanas. Por otra parte, el YM155 combinado con Docetaxel mostró una regresión completa de los tumores en tres casos, y el efecto anticanceroso fue potenciado significativamente ( $P<0,01$ ) en comparación con cada grupo de tratamiento con compuesto solo el día 35. No se observó un descenso estadísticamente significativo en el peso corporal en el grupo combinado en comparación con el grupo con Docetaxel (Figura 1-(e)).

[Tabla 4]

Grupos de Tratamiento	Volumen Tumoral (mm <sup>3</sup> )		Peso Corporal (g)	Actividad Antitumoral (%inh / %reg)	Número de RC
	día 0	día 35	día 35		
Vehículo Control	207,7 ±23,5	3380,8 ± 325,4	24,33 ± 0,85	---	0/8
YM155	206,9 ±21,8	1437,5 ± 225,5	24,80 ± 1,01	61%/-	0/8
Docetaxel	210,0 ±22,6	67,2 ± 15,1	23,84 ± 1,01	>100% / 68%	0/8
Docetaxel → YM155	210,1 ±20,4	5,5 ± 1,7 <sup>*,##</sup>	25,74 ± 1,13 <sup>N.S., N.S.</sup>	>100% / 97%	3/8

30 Los valores se expresan como la media ± ETM (n=8). \*\*:  $P<0,01$ , una diferencia significativa del grupo combinado frente al grupo con Docetaxel. ##:  $P<0,01$ , una diferencia significativa del grupo combinado frente al grupo con YM155. N.S.: no significativo del grupo con Docetaxel (Prueba de la t de Student).

### Ejemplo Comparativo 3

35 El estudio se llevó a cabo de la misma manera que el Ejemplo Comparativo 1, excepto que se utilizaron los agentes enumerados en la Tabla 5 en lugar de Docetaxel de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación.

**[Tabla 5]**

Agente Anticanceroso		Régimen de Dosificación	Resultado
Carboplatino	CBDCA	60 mg/kg/día i.v. (día 0, 1)	Fig. 2-(a) y (b)
Cisplatino	CDDP	3 mg/kg/día i.v. (día 0-4, 7-11)	Fig. 2-(c) y (d)
Gemcitabina	GEM	200 mg/kg/día i.v. (día 0,3,6)	Fig. 3-(a) y (b)
Vinorelbina	VNR	10 mg/kg/día i.v. (día 0, 7)	Fig. 3-(c) y (d)
Doxorrubicina	DXR	10 mg/kg/día i.v. (día 0, 7)	Fig. 4-(a) y (b)
Irinotecan	CPT-11	60 mg/kg/día i.v. (día 0-4)	Fig. 4-(c) y (d)
Paclitaxel	TXL	10-15 mg/kg/día i.v. (día 0-4)	Fig. 5-(a) y (b)

(En la Tabla 5, i.v. significa administración intravenosa, por ejemplo, (día 0, 1) significa administración una vez al día el día inicial de la administración (día 0) y el 1<sup>er</sup> día (día 1); (día 0-4) significa administración una vez al día desde el día inicial de administración (día 0) hasta el 4<sup>o</sup> día (día 4), respectivamente). Los resultados se muestran en las Figuras 2 a 5. En las figuras, los valores se expresan como la media  $\pm$  ETM (n=8). ##  $P < 0,05$  frente al grupo con agente anticanceroso, \*\* $P < 0,01$  frente al grupo con YM155, # $P < 0,05$  frente al grupo con YM155, N.S.: no significativo a partir del grupo con YM155 y el grupo con agente anticanceroso, respectivamente (prueba de la t de Student). Los respectivos agentes anticancerosos se adquirieron como productos disponibles en el mercado, y se prepararon de acuerdo con el procedimiento de los prospectos para su uso en los ensayos.

#### Ejemplo Comparativo 4

15 El estudio se llevó a cabo de la misma manera que el Ejemplo Comparativo 1, excepto que se utilizó Dacarbazina en lugar de Docetaxel y que se utilizaron células A375 de Melanoma en lugar de células Calu 6 de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación (n=8). Los resultados se muestran en la Figura 6.

Grupo con YM155	YM155 3 mg/kg/día (7 días infusión sc continua)
Grupo con Dacarbazina (DTIC)	Dacarbazina 200 mg/kg/día, i.v. (día 0-5)
Grupo Combinado	YM155 3 mg/kg/día (7 días infusión sc continua) + Dacarbazina 200 mg/kg, i.v. (día 0-5)

20 La Dacarbazina se adquirió en forma de producto disponible en el mercado, y se preparó de acuerdo con el procedimiento de los prospectos para el uso en los ensayos.

#### Ejemplo de Ensayo 5

25 El estudio se llevó a cabo de la misma manera que el Ejemplo Comparativo 1, excepto que se utilizó una terapia combinada R-ICE (RICE) o Rituximab (RTX) en lugar de Docetaxel, y que se utilizaron células WSU-DLCL-2 de linfoma en lugar de células Calu 6 de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación.

Grupo con YM155	YM155 1 mg/kg/día (7 días infusión sc continua)
Grupo con RICE	RTX 50 mg/kg, i.v. (día 0) + (IFM 200 mg/kg+ETP 10 mg/kg), i.v. (día 1,2 y 3) + CBDCA 30 mg/kg, i.v. (día 1)
Grupo con YM155+RICE	YM155 1 mg/kg/día (7 días infusión sc continua) + RTX 50 mg/kg, i.v. (día 0) + (IFM 200 mg/kg + ETP 10 mg/kg), i.v. (día 1,2 y 3) + CBDCA 30 mg/kg, i.v. (día 1).
Grupo con M1555+RTX	YM155 1 mg/kg/día (7 días infusión sc continua) + RTX 50 mg/kg, i.v. (día 0).

El Rituximab (RTX), el carboplatino (CBDCA), la ifosfamida (IFM), y el etopósido (ETP) se adquirieron en forma de productos asequibles comercialmente, y se prepararon de acuerdo con el procedimiento de los prospectos para su uso en los ensayos.

Los resultados se muestran en la Figura 7. En las figuras, los valores se expresan como la media  $\pm$  ETM (n=6). \*\*:  $P < 0,01$  frente al grupo con RICE o RTX, \*:  $P < 0,05$  frente al grupo con RICE o RTX, #:  $P < 0,01$  frente al grupo con YM155, N.S.: no significativo a partir del grupo con YM155 y el grupo con RICE o RTX, respectivamente (prueba de la t de Student).

El YM155 combinado con RICE mostró una regresión completa de los tumores en un caso, y el YM155 combinado con RTX mostró una regresión completa de los tumores en dos casos.

El estudio preliminar se realizó utilizando un método similar al del grupo con YM155+RICE anteriormente mencionado, pero se utilizó una terapia combinada con R-DHAP en lugar de una terapia combinada con R-ICE, en donde R-DHAP consistía en rituximab (50 mg/kg i.v., día 0 y 2), cisplatino (5 mg/kg, i.v., día 2), citarabina (70 mg/kg, i.v., día 4). El volumen del tumor se redujo significativamente ( $P < 0,01$ ) en el grupo combinado en comparación con el grupo con R-DHAP el día 18.

### Ejemplo de Ensayo 6

El estudio se llevó a cabo del mismo modo que el Ejemplo de Ensayo 5 de acuerdo con el siguiente régimen de dosificación.

Grupo con YM155: YM155 2 mg/kg/día (7 días infusión sc continua)

Grupo con RICE: RTX 50 mg/kg, i.v. (día 6 y 8) + (IFM 400 mg/kg + CBDCA 30 mg/kg), i.v. (día 9) + ETP 10 mg/kg, i.v. (día 8, 9 y 10)

Grupo con YM155+RICE: YM155 2 mg/kg/día (7 días infusión sc continua) + RTX 50 mg/kg, i.v. (día 6 y 8) + (IFM 400 mg/kg + CBDCA 30 mg/kg), i.v. (día 9) + ETP 10 mg/kg, i.v. (día 8, 9 y 10)

Los resultados se mostraron en la tabla 6. En la tabla, los valores se expresan como la media  $\pm$  ETM (n=8, grupo con RICE: n=6). \*\*:  $P < 0,01$  frente al grupo con RICE, #:  $P < 0,01$  frente al grupo con YM155, N.S.: no significativo a partir del grupo con RICE (prueba de la t de Student). El YM155 combinado con RICE mostró una regresión completa de los tumores en 6 casos de los 8 casos.

[Tabla 6]

Grupos de Tratamiento	Volumen del Tumor (mm <sup>3</sup> )		Peso Corporal (g)	Actividad Antitumoral (%inh / %reg)	Número de RC
	día 0	día 28	día 28		
Vehículo Control	404,4 $\pm$ 14,5	2131,5 $\pm$ 276,6	29,02 $\pm$ 0,38	---	0/8
YM155	405,1 $\pm$ 13,8	1181,3 $\pm$ 174,7	28,81 $\pm$ 0,23	45%	0/8
RICE	404,2 $\pm$ 13,0	1356,0 $\pm$ 371,7	29,54 $\pm$ 0,51	56%	0/6
YMI55 RICE →	404,7 $\pm$ 12,6	17,6 $\pm$ 11,5**##	28,55 $\pm$ 0,26 <sup>N.S.</sup>	>100% / 96%	6/8

**APLICABILIDAD INDUSTRIAL**

5 La composición farmacéutica que comprende YM155 como ingrediente activo para el tratamiento de un cáncer en una terapia combinada con uno o más agentes anticancerosos existentes, en la que la acción inhibidora de YM155 sobre la expresión de la survivina funciona sinérgicamente con el efecto anticanceroso del agente anticanceroso existente, proporciona un efecto terapéutico elevado para los cánceres y, por consiguiente, es útil en el tratamiento de una variedad de cánceres a los que se aplican los agentes anticancerosos existentes. De este modo, la composición farmacéutica de la invención es útil en el tratamiento de cánceres, preferiblemente todos los cánceres sólidos y linfomas, concretamente cáncer de piel, cáncer de vejiga, cáncer de mama, cáncer de útero, cáncer de ovario, cáncer de próstata, cáncer de pulmón, cáncer de colon, cáncer de páncreas, cáncer de riñón, cáncer gástrico, y similares. Concretamente, se espera que sean agentes terapéuticos para algunas clases de cánceres que muestran resistencia a los agentes anticancerosos existentes.

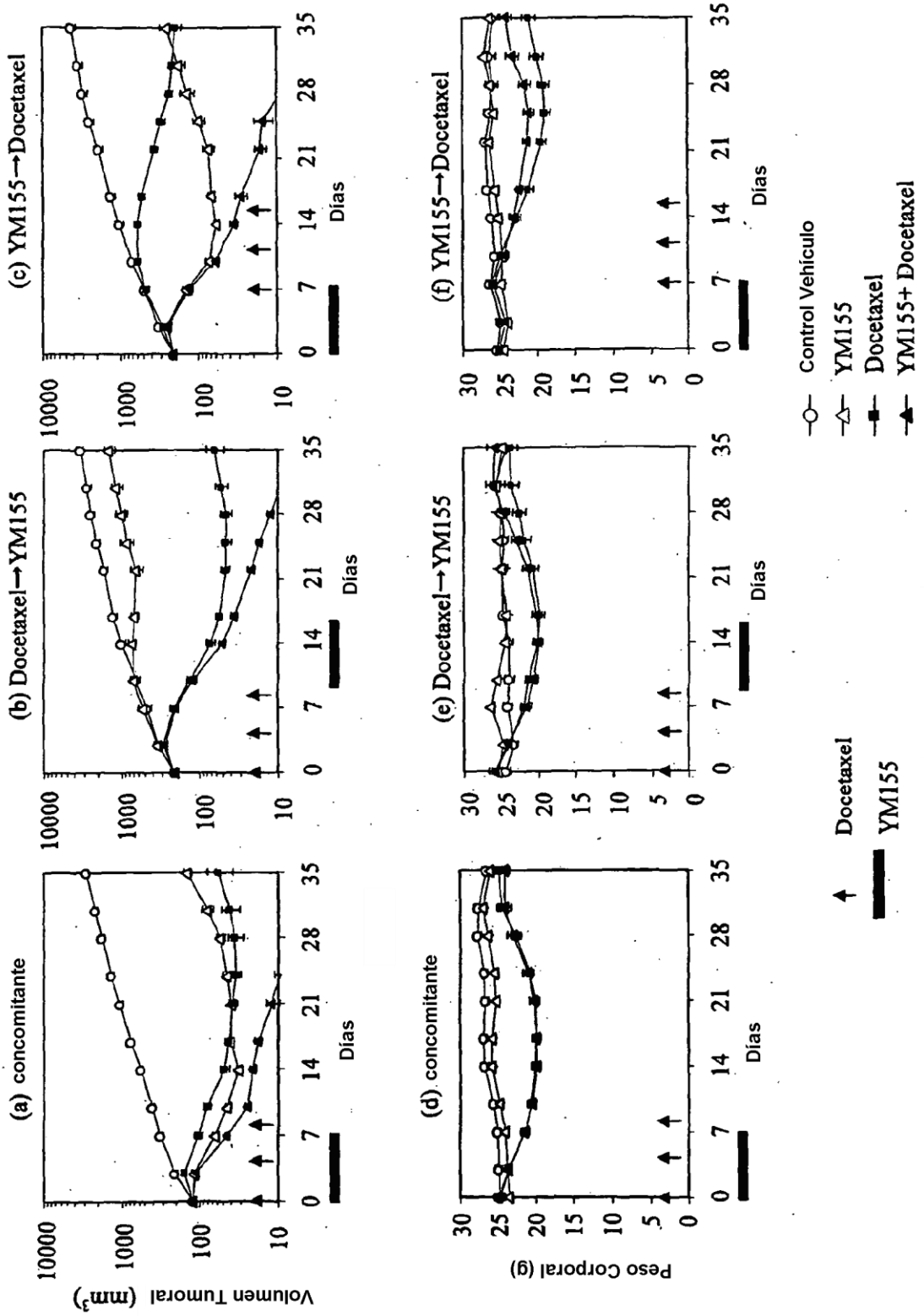
10

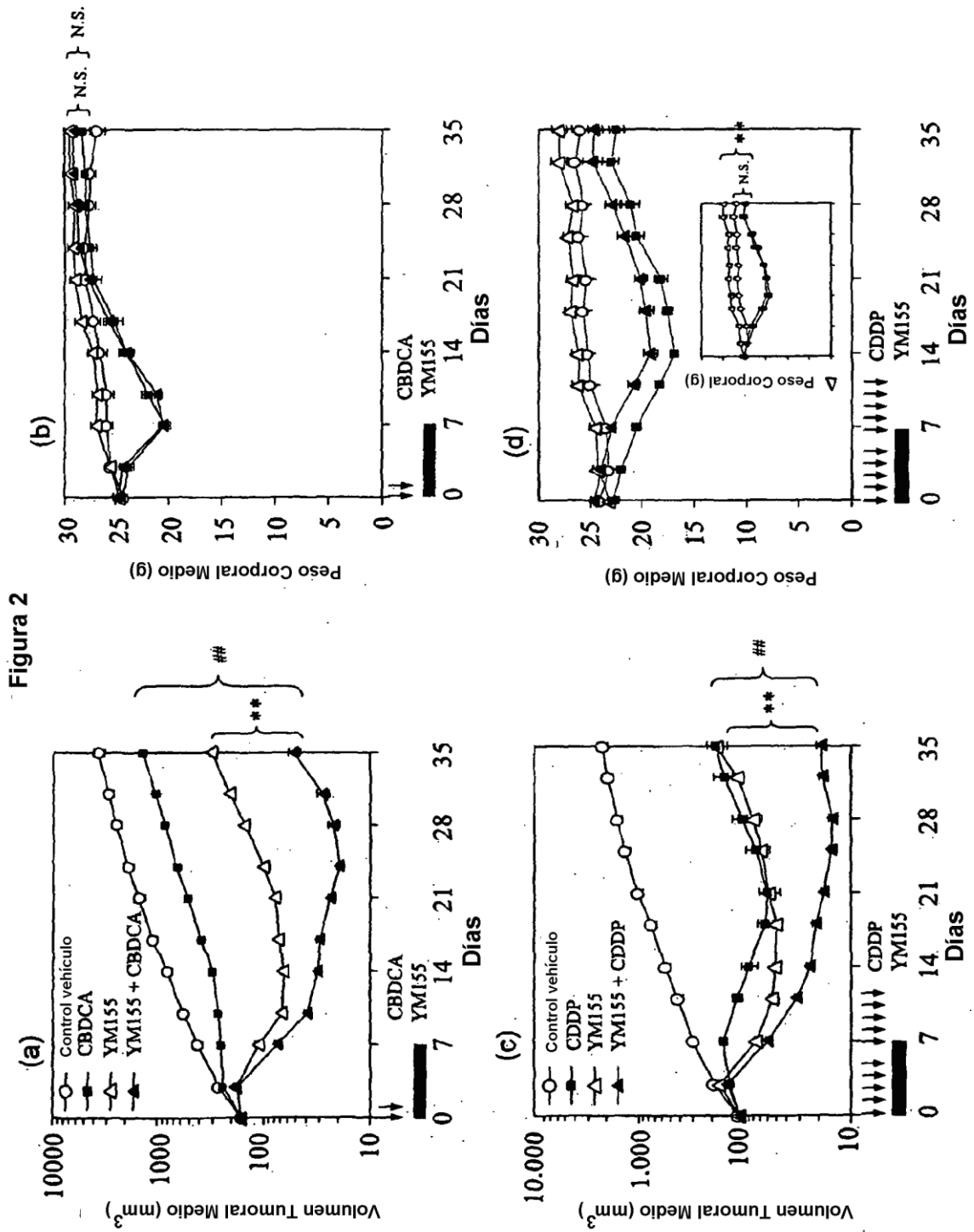
## REIVINDICACIONES

- 5 **1.** Una composición farmacéutica que comprende bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io como ingrediente activo, para su uso en el tratamiento del cáncer en una terapia combinada que comprende el uso de
- i) rituximab, o
- ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE que consiste en rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido, y R-DHAP que consiste en rituximab, citarabina y cisplatino como agentes anticancerosos.
- 10 **2.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación1, en donde la terapia combinada comprende el uso de rituximab.
- 3.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación1, en donde la terapia combinada comprende el uso de una terapia combinada seleccionada entre R-ICE y R-DHAP.
- 15 **4.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación3, en donde la terapia combinada comprende el uso de una terapia combinada con R-ICE.
- 5.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación2 o 3, en donde la composición es para su uso en el tratamiento del linfoma.
- 20 **6.** Una composición para su uso de acuerdo con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 5, en donde la composición es una formulación para la administración de bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io intravenosamente mediante infusión a una dosis de 1 - 10 mg/m<sup>2</sup>/día continuamente durante un período de 4 - 14 días.
- 25 **7.** Una composición para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en donde la formulación es para la administración de bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io intravenosamente mediante infusión a una dosis de 3-8 mg/m<sup>2</sup>/día continuamente durante 7 días, seguido de un descanso del fármaco de 14 días, dependiendo dicho ciclo de administración repetido de las condiciones.
- 30 **8.** El uso de bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io en la producción de un medicamento para el tratamiento del cáncer, en donde el medicamento se utiliza en una terapia combinada que comprende el uso de
- 35 i) rituximab, o
- ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE que consiste en rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido, y R-DHAP que consiste en rituximab, citarabina y cisplatino como agentes anticancerosos.
- 40 **9.** Un agente para su uso en el tratamiento del cáncer que comprende como ingrediente activo bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io, en donde el agente es para su uso en una terapia combinada que comprende el uso de
- 45 i) rituximab, o
- ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE que consiste en rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido, y R-DHAP que consiste en rituximab, citarabina y cisplatino como agentes anticancerosos.
- 10.** Un potenciador del efecto anticanceroso de
- i) rituximab, o
- 50 ii) una terapia combinada seleccionada entre R-ICE que consiste en rituximab, ifosfamida, carboplatino y etopósido, y R-DHAP que consiste en rituximab, citarabina y cisplatino como agentes anticancerosos, en donde el potenciador comprende bromuro de 1-(2-metoxietil)-2-metil-4,9-dioxo-3-(pirazin-2-ilmetil)-4,9-dihidro-1H-nafto[2,3-d]imidazol-3-io como ingrediente activo.



Figura 1





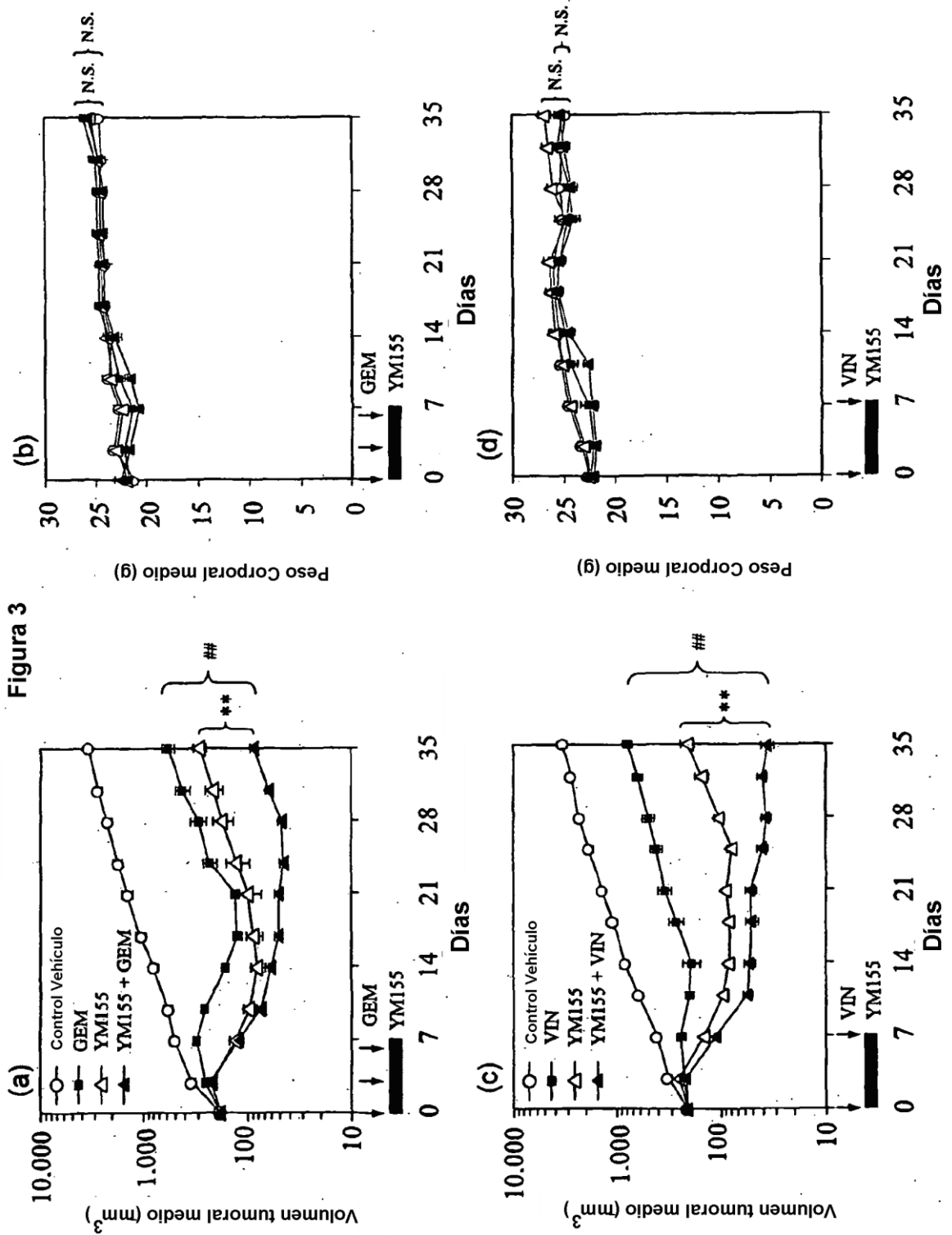


Figura 4

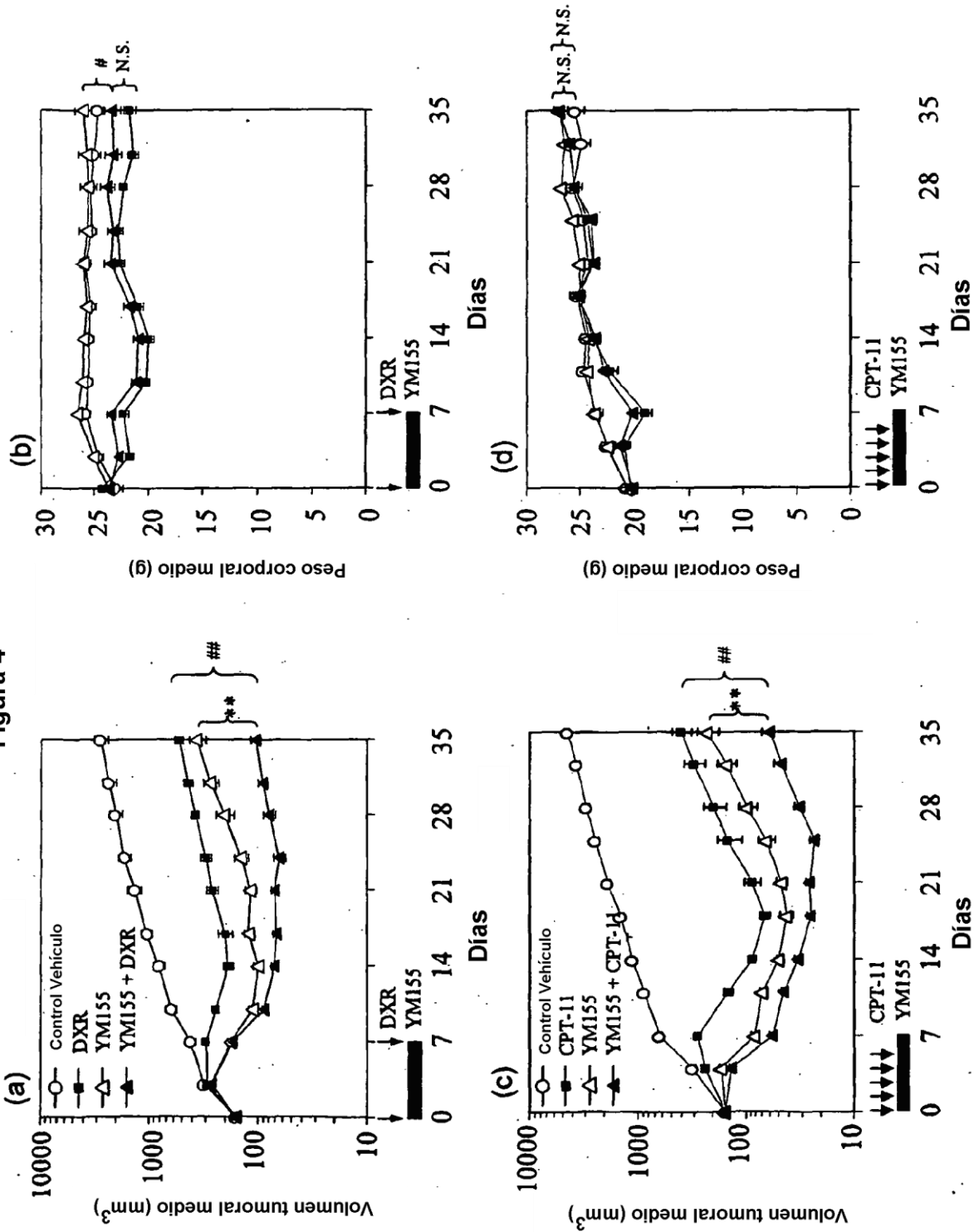


Figura 5

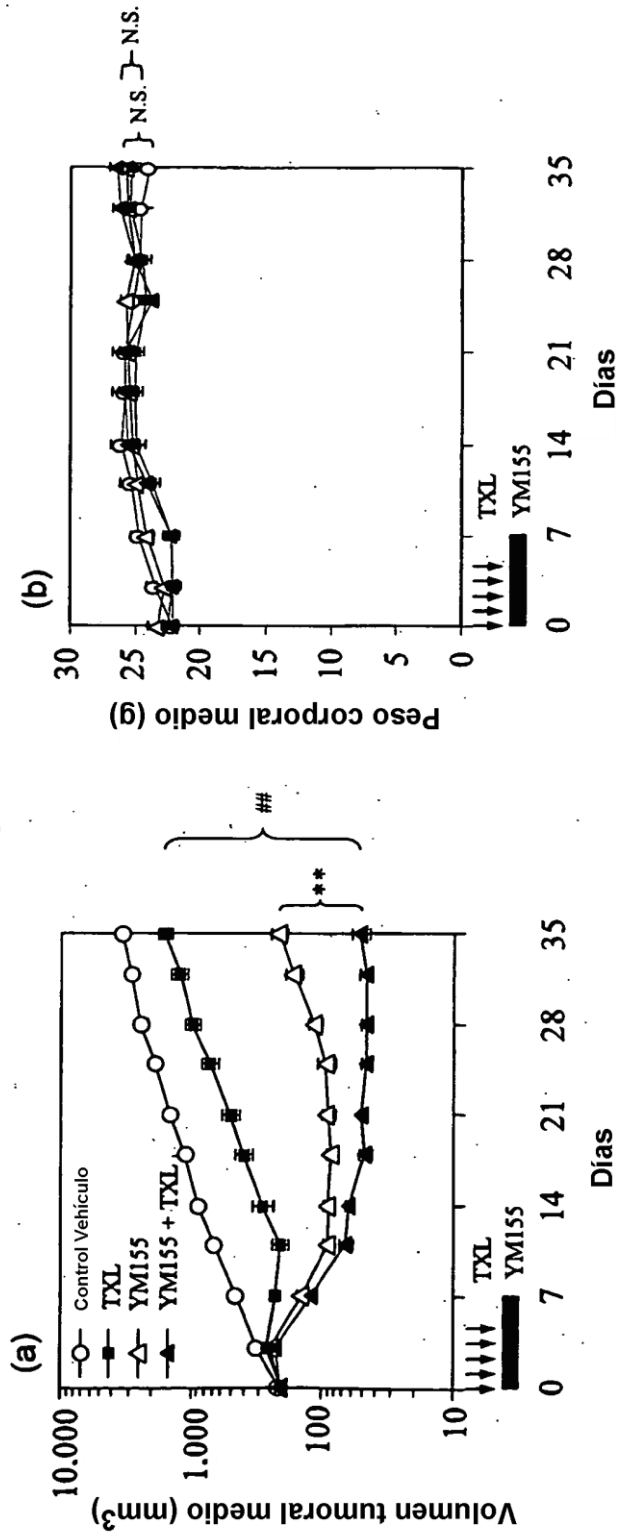


Figura 6

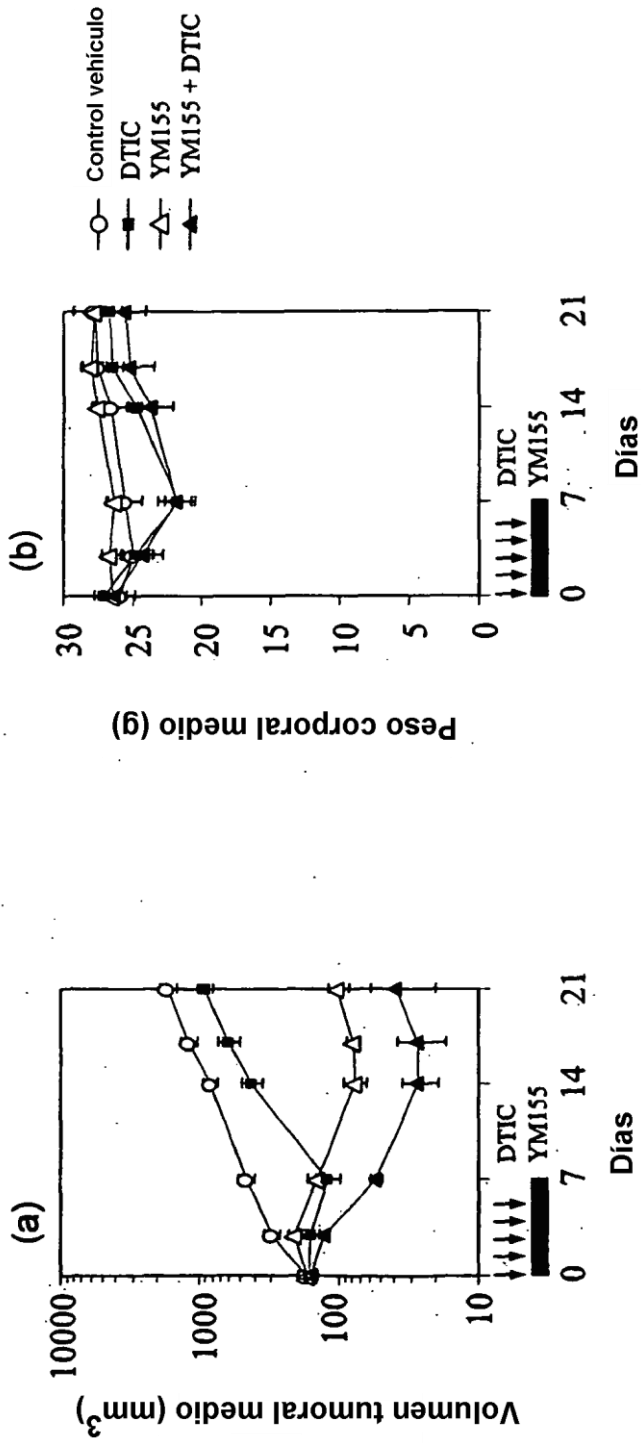


Figura 7

