

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 437 841**

51 Int. Cl.:

A61K 31/496 (2006.01)

A61K 31/517 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.04.2004 E 04729366 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013 EP 1622619**

54 Título: **Combinaciones para el tratamiento de enfermedades que implican proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis**

30 Prioridad:

29.04.2003 EP 03009587

13.01.2004 EP 04000508

21.01.2004 EP 04001171

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

14.01.2014

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (100.0%)
BINGER STRASSE 173
55216 INGELHEIM AM RHEIN, DE**

72 Inventor/es:

**HILBERG, FRANK;
SOLCA, FLAVIO;
STEFANIC, MARTIN FRIEDRICH;
BAUM, ANKE;
MUNZERT, GERD y
VAN MEEL, JACOBUS C.A.**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 437 841 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

Combinaciones para el tratamiento de enfermedades que implican proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere al tratamiento de enfermedades que impliquen proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis, que comprende la co-administración a una persona en necesidad de tal tratamiento y/o el co-tratamiento de una persona en necesidad de tal tratamiento con cantidades efectivas de:

- 10 (i) un antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado; y
 (ii) al menos un agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional; y/o
 (iii) radioterapia o radioinmunoterapia.

15 Esta invención se refiere también a composiciones farmacéuticas adecuadas que comprenden cantidades efectivas de:

- (i) un antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado; y
 (ii) al menos un agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional;
 y opcionalmente adaptadas para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de enfermedades que impliquen proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis, y especialmente para inhibir el crecimiento, la supervivencia y la metástasis de tumores.

Esta invención se refiere también al uso combinado de cantidades efectivas de:

- 25 (i) un antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado; y
 (ii) al menos un agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional;
 para la fabricación de una preparación farmacéutica combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de enfermedades que implican proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis, y especialmente para inhibir el crecimiento, la supervivencia y la metástasis de tumores en combinación con un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia.

30 Esta invención se refiere también al uso de una cantidad efectiva de un antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, para la fabricación de una composición farmacéutica adaptada para un co-tratamiento simultáneo, separado o secuencial con radioterapia o radioinmunoterapia de enfermedades que implican proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis, y especialmente para inhibir el crecimiento, la supervivencia y la metástasis de tumores.

Antecedentes de la invención

35 En la última década, ha sido caracterizada la actividad biológica de ciertos tipos y subtipos de la familia del receptor de protein-tirosin-quinasa tales como, por ejemplo, el factor de crecimiento epidérmico EGFR y sus subtipos ErbB-2 y ErbB-4 (Brignola y otro(s), Journal of Biological Chemistry, Vol. 277, № 2, páginas 1576-1585, 2002) o los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular VEGFR 1-3 juntamente con sus ligandos VEGF y sus cuatro subtipos conocidos hasta la fecha (Jung y otro(s), European Journal of Cancer, Vol. 38, páginas 1133-1140, 2002). Estudios similares dados a conocer en informes previos muestran que la sobre-expresión de algunos de estos receptores está implicada en múltiples formas de cáncer. Por ejemplo, estudios han proporcionado evidencia de que el factor de crecimiento epidérmico EGF actúa como un factor de crecimiento en tumores, y de que el factor de crecimiento endotelial vascular VEGF es uno de los mediadores más comunes de la angiogénesis tumoral, que es esencial para el crecimiento y metástasis de tumores sólidos. Los inhibidores de los receptores han sido, en consecuencia, y son aún evaluados para la terapia del cáncer (véase, por ejemplo, el artículo de Cerrington y otro(s), en Advances in Cancer Research, Academic Press 2000, paginas 1-38).

40 Estudios recientes han sugerido también la combinación conjunta de diversos antagonistas de receptor, o la combinación adicional con un agente quimioterapéutico o radiación. Por ejemplo, el documento WO 02/070008 sugiere la combinación de un antagonista específicamente dirigido contra el receptor de VEGF con un antagonista específicamente dirigido contra el receptor de EGF, opcionalmente en forma conjunta con radiación o un agente quimioterapéutico, para la inhibición de crecimiento tumoral. Como ejemplo de antagonistas específicos adecuados, la WO 02/070008 da a conocer anticuerpos monoclonales dirigidos contra el receptor de VEGF y anticuerpos monoclonales dirigidos contra el receptor de EGF.

60 De manera similar, el documento WO 03/011837 describe composiciones que comprenden inhibidores de tirosin-quinasa y un segundo compuesto terapéutico, y el documento WO 03/022815 describe derivados de indolinona en calidad de inhibidores de tirosin-quinasa que actúan sobre el receptor, así como tirosin-quinasas no receptoras y se pueden combinar con agentes quimioterapéuticos adicionales y terapia de radiación.

De este modo, un gran número de antagonistas del receptor de protein-tirosin-quinasa se encuentran actualmente en desarrollo clínico para el tratamiento de cáncer (véase, por ejemplo, Expert Opinion Review de Laid y Cherrington en Expert Opin. Invest. Drugs, Vol. 12, Nº 1, páginas 51-64, 2003). Sin embargo, no se ha logrado hasta ahora prueba de la eficacia para estas sustancias, utilizadas solas o con otras terapias contra el cáncer, en el tratamiento de enfermedades oncológicas, ya sea debido a la falta de beneficio adicional respecto de la terapia convencional o bien a causa del descubrimiento de efectos secundarios inaceptables.

Por ejemplo, se ha publicado recientemente que un inhibidor de angiogénesis que ha sido ya clínicamente probado, también en conjunción con quimioterapia, a saber, el inhibidor con nombre de código SU5416, desarrollado por Pharmacia para el tratamiento de cáncer, fue asociado con efectos secundarios perturbadores, a saber, episodios tromboembólicos (Ken Garber y Ann Arbor, Nature Biotechnology, Vol. 20, páginas 1067-1068, Nov. 2002).

Para el tratamiento de enfermedades de naturaleza oncológica, ya se ha sugerido un gran número de agentes quimioterapéuticos, que pueden ser utilizados como monoterapia (tratamiento con un agente) o como terapia de combinación (tratamiento simultáneo, separado o secuencial con más de un agente) y/o que pueden ser combinados con radioterapia o radioinmunoterapia. En este sentido, agente quimioterapéutico significa un compuesto químico natural, semi-sintético o sintético, que, solo o por medio de activación ulterior, por ejemplo con radiaciones en el caso de radioinmunoterapia, inhibe o mata células en crecimiento, y que puede ser utilizado o está aprobado para ser usado en el tratamiento de enfermedades de naturaleza oncológica, que son comúnmente designadas también como cánceres. En la literatura, estos agentes son generalmente clasificados de acuerdo con su mecanismo de acción. Respecto de este tema, se puede hacer referencia, por ejemplo, a la clasificación realizada en "Cancer Chemotherapeutic Agents", American Chemical Society, 1995, W. O. Foye Ed.

De este modo, dentro del contexto de la presente invención, son específicamente de interés las siguientes clases de agentes quimioterapéuticos, si bien no representan una limitación

- antagonistas del receptor de VEGF de molécula pequeña sintéticos
- antagonistas del receptor de factor de crecimiento (GF) de molécula pequeña
- inhibidores del receptor de EGF y/o receptor de VEGF y/o receptores de integrina o cualesquiera otros receptores de protein-tirosin-quinasa, que no estén clasificados entre las moléculas pequeñas sintéticas
- inhibidores dirigidos al receptor de EGF y/o receptor de VEGF y/o receptores de integrina o cualesquiera otros receptores de protein-tirosin-quinasa, que sean proteínas de fusión
- compuestos que interactúan con ácidos nucleicos y que están clasificados como agentes alquilantes o compuestos de platino
- compuestos que interactúan con ácidos nucleicos y que están clasificados como antraciclinas, como intercaladores de ADN o como agentes formadores de enlaces cruzados en ADN
- anti-metabolitos
- antibióticos del tipo de la bleomicina (antibióticos del grupo BLM) naturales, semi-sintéticos o sintéticos
- inhibidores de enzimas de transcripción de ADN, especialmente inhibidores de topoisomerasa I o topoisomerasa II
- agentes de modificación de cromatina
- inhibidores de mitosis, agentes antimitóticos, o inhibidores del ciclo celular
- inhibidores de proteasoma
- enzimas
- hormonas, antagonistas de hormona o inhibidores de hormona, o inhibidores de biosíntesis de esteroides
- esteroides
- citoquinas, citotoxinas selectivas a la hipoxia, inhibidores de citoquinas, linfoquinas, anticuerpos dirigidos contra citoquinas o estrategias de inducción de tolerancia oral y parenteral
- agentes de soporte
- sensibilizadores y protectores de la radiación química
- fármacos activados fotoquímicamente
- poli- u oligonucleótidos sintéticos;
- otros agentes quimioterapéuticos o terapéuticos naturales, semi-sintéticos o sintéticos, tales como antibióticos citotóxicos, anticuerpos dirigidos contra moléculas superficiales de células cancerosas, inhibidores de metaloproteinasas, inhibidores de oncogenes, inhibidores de transcripción de genes o de traducción de ARN o expresión de proteína, o complejos de elementos de tierras raras.

Otras clases de compuestos, que hasta ahora no están clasificados como agentes quimioterapéuticos, que son agentes terapéuticos naturales, semi-sintéticos o sintéticos, tales como los fármacos anti-inflamatorios no esteroides, especialmente los inhibidores de ciclooxigenasa (COX) y más específicamente los inhibidores de COX-2, son también de interés para terapias de combinación.

Aun cuando ya se ha sido sugerido el concepto de combinar diversos agentes terapéuticos o terapias, y aunque se encuentran en investigación y en ensayos clínicos varias terapias de combinación, existe todavía una necesidad de agentes terapéuticos novedosos y eficaces para el tratamiento de enfermedades en las cuales estén implicadas la

proliferación, migración o apoptosis celular de células de mieloma, o angiogénesis, y existe incluso una necesidad para desarrollar otras combinaciones que puedan exhibir mayor eficacia y menos efectos secundarios.

5 Estas enfermedades pueden también ser de naturaleza oncológica, lo que incluye todos los tipos de neoplasias malignas o cánceres, o de naturaleza no oncológica, tales como retinopatía diabética, artritis reumatoide o psoriasis.

Sumario de la invención

Se ha descubierto ahora que la co-administración a una persona en necesidad de tal tratamiento y/o el co-

10 (i) un antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, y
 (ii) por lo menos un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, y/o
 (iii) radioterapia o radioinmunoterapia,

15 proporcionan ventajas inesperadas en el tratamiento de tumores sólidos a una persona en necesidad de tal tratamiento, con elevada eficacia, en comparación con la administración de cualquiera de estas sustancias solas y/o el tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia.

Además se ha descubierto que el tratamiento de combinación de acuerdo con la presente invención es especialmente eficaz para la inhibición del crecimiento, supervivencia y metástasis de tumores.

20 El antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa es seleccionado de compuestos específicos.

Entre los agentes quimioterapéuticos o terapéuticos naturales, semi-sintéticos o sintéticos, son preferidos los compuestos específicos.

25 La enfermedad tratada de acuerdo con la presente invención se selecciona de tumores sólidos, tal como cánceres urogenitales (tales como cáncer de próstata, cánceres de células renales, cánceres de vejiga), cánceres ginecológicos (tales como cánceres de ovario, cánceres cervicales, cánceres de endometrio), cáncer pulmonar, cánceres gastrointestinales (tales como cánceres colorrectales, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cánceres de esófago, cánceres hepatocelulares, cánceres colangiocelulares), cáncer de cabeza y cuello, mesotelioma maligno, cáncer de mama, melanoma maligno o sarcomas de tejido óseo y suave. En una realización preferida, la enfermedad es cáncer
 30 de próstata, cáncer de ovario, o cáncer pulmonar de célula pequeña sensibles a hormona o refractarios a hormona.

35 Por consiguiente, la eficacia beneficiosa de los métodos de acuerdo con la invención están basados principalmente en los efectos aditivos y sinérgicos del tratamiento combinado, o apunta a una tolerabilidad mejorada del tratamiento por parte del paciente debida, por ejemplo, a la administración de dosis inferiores de los agentes terapéuticos involucrados.

40 Las ventajas inesperadas mencionadas anteriormente pueden deberse también a una inducción de apoptosis más eficiente por parte del agente quimioterapéutico, una vez que la señal de supervivencia constitutivamente activa del receptor de protein-tirosin-quinasa, mediada por el tumor, es inhibida por el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado.

45 En el caso del uso de un antagonista de receptores de protein-tirosin-quinasa o de un inhibidor de otros mediadores implicados en la angiogénesis tales como, por ejemplo, los factores de crecimiento endotelial vascular (VEGF), los factores de permeabilidad vascular, el factor de crecimiento de fibroblasto básico (bFGF), interleuquina-6 (IL-6) o interleuquina-8 (IL-8), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), una de las ventajas del método y composición de acuerdo con la presente invención radica en dirigir el tratamiento a la vasculatura asociada al tumor, antes que a, o conjuntamente con, el tumor mismo, a fin de cortar el suministro de energía de las células cancerosas.

50 Otra ventaja es que se espera una inducción o restablecimiento de la sensibilidad hacia el agente quimioterapéutico en pacientes tratados con la combinación de agentes quimioterapéuticos para los cuales la sensibilidad se pierde en el curso del tratamiento y de un antagonista de VEGFR. Éste es especialmente el caso de pacientes que sufren de mieloma múltiple refractario y que son tratados con esteroides como agente quimioterapéutico. Se espera que un
 55 tratamiento de combinación con esteroides y un antagonista de VEGFR restablezca la sensibilidad a los esteroides de pacientes que sufren de mieloma múltiple refractario.

60 De acuerdo con la presente invención, una preparación combinada sinérgica quiere decir que comprende una cantidad del antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, o de un polimorfo, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable de este compuesto activo, y una cantidad del agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, y/o radioterapia o radioinmunoterapia, en la cual la cantidad de agentes terapéuticos individuales sola es insuficiente para alcanzar el efecto terapéutico logrado mediante la administración de la combinación de dichos agentes terapéuticos, y en la cual los efectos combinados de las cantidades de los agentes terapéuticos es mayor que la suma de los efectos terapéuticos alcanzables con las cantidades de los agentes terapéuticos individuales.
 65

Vista desde un aspecto diferente, la presente invención también se refiere a una combinación farmacéutica para el tratamiento de tumores sólidos, que comprende un antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, y un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, y/o radioterapia o radioinmunoterapia, como una preparación combinada para uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de dichas enfermedades, opcionalmente en forma conjunta con uno o más diluyentes y/o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Vista de un aspecto diferente, la presente invención también se refiere a un kit farmacéutico de preparación de combinación para el tratamiento de tumores sólidos, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una cantidad terapéuticamente efectiva de un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, caracterizado porque el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa está comprendido dentro de un primer compartimento y el agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional está comprendido dentro de un segundo compartimento, de modo que la administración a un paciente en necesidad del mismo pueda ser simultáneo, separado o secuencial, estando además adaptado dicho kit de preparación de combinación para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia.

En una realización de acuerdo con la presente invención, en cada compartimento del kit farmacéutico de preparación de combinación, cada sustancia activa está formulada para una administración oral.

Vista desde un aspecto adicional, la presente invención proporciona de este modo el uso de un antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado en combinación con un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, y/o adaptado para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, para la fabricación de una preparación de combinación farmacéutica para el tratamiento de las enfermedades o indicaciones mencionadas previamente.

Dentro del significado de la presente invención, cantidades efectivas de agentes terapéuticos y/o de un tratamiento terapéutico mediante radioterapia o radioinmunoterapia significan cantidades de los agentes y/o del tratamiento mediante radioterapia o radioinmunoterapia que son efectivas para lograr un efecto terapéutico cuando son empleadas en combinación.

Descripción detallada de la invención

• Las enfermedades

Como ya se ha mencionado anteriormente, las enfermedades que pueden ser tratadas por la combinación de acuerdo con la presente invención son todos los tipos de tumores sólidos, tales como cánceres urogenitales (tales como cáncer de próstata, cánceres de células renales, cánceres de vejiga), cánceres ginecológicos (tales como cánceres de ovario, cánceres cervicales, cánceres de endometrio), cáncer pulmonar, cánceres gastrointestinales (tales como cánceres colorectales, cáncer pancreático, cáncer gástrico, cánceres de esófago, cánceres hepatocelulares, cánceres colangiocelulares), cáncer de cabeza y cuello, mesotelioma maligno, cáncer de mama, melanoma maligno o sarcomas de tejido óseo y suave.

El tratamiento de combinación de acuerdo con la presente invención es especialmente eficiente para la inhibición de crecimiento, supervivencia o metástasis tumorales.

De especial interés para el tratamiento de combinación es el tratamiento de cáncer de próstata, carcinoma ovárico, cáncer pulmonar de célula no pequeña, cáncer pulmonar de célula pequeña, o mieloma múltiple sensibles a hormona o refractarios a hormona.

El antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado

De acuerdo con la presente invención, el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado es preferentemente un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, y además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, y especialmente src, lck, lyn, o fyn, o un polimorfo, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado puede ser adicionalmente un antagonista de al menos un complejo de una quinasa dependiente de ciclina con su ciclina específica o con una ciclina viral, tal como CDK1, CDK2, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK8 y CDK9 con sus ciclinas específicas A, B1, B2, C, D1, D2, D3, E, F, G1, G2, H, I y K, y/o además un inhibidor de la secreción de IL-6 paracrina.

En una realización adicional de acuerdo con la presente invención, la combinación de las sustancias activas está destinada al tratamiento de enfermedades oncológicas que implican angiogénesis.

La angiogénesis de tumores juega un papel importante en el progreso de malignidades humanas. Se piensa que la inhibición de este proceso es un excelente punto de intervención terapéutica en el tratamiento del cáncer. Se ha mostrado que la transducción de señal a través del receptor de factor de crecimiento endotelial vascular 2 (VEGR-2) juega un rol de pivote en la proliferación, supervivencia y migración de células endoteliales en la angiogénesis de tumores.

En esta materia, han sido desarrollados antagonistas de VEGFR-2 de bajo peso molecular potentes y oralmente disponibles como compuestos novedosos que son útiles para el tratamiento de enfermedades que implican proliferación, migración o apoptosis celulares de células de mieloma, o angiogénesis, y especialmente como nuevos agentes terapéuticos para cáncer. Estos antagonistas son de tal modo inhibidores de la actividad del receptor. Algunos de estos antagonistas son también antagonistas de otros receptores de factor de crecimiento, tales como VEGFR-3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, y algunos también antagonistas de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, de src, lck, lyn, y fyn,

Estos compuestos se dan a conocer en los documentos WO 02/36564, WO 99/52869, WO 00/18734, WO 00/73297, WO 01/27080, WO 01/27081 y WO 01/32651.

El siguiente compuesto es particularmente representativo y es un inhibidor combinado de VEGFR-2 y lck utilizados como antagonista del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado dentro del significado de la presente invención.

(T) (Z)-3-(1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona;
así como sus sales farmacéuticamente aceptables.

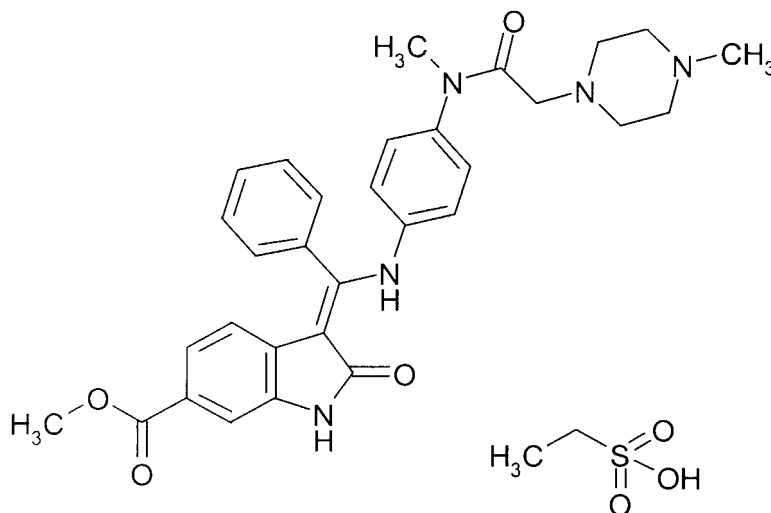
El compuesto (T) se describe en el documento WO 01/27081.

Especialmente representativo es, por lo tanto, el potente antagonista de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR y c-kit, de bajo peso molecular y que es oralmente disponible, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, y especialmente de src, lck, lyn, y fyn, adicionalmente un antagonista de un complejo de quinasas dependientes de ciclina con sus ciclina específicas o con una ciclina viral, y además un inhibidor de la secreción de IL-6 paracrina, dado a conocer, por ejemplo en la WO 01/27081, como compuesto ejemplificado Nº 473, así como también sus sales farmacéuticamente aceptables. Este compuesto, al que se hace referencia como (T) en lo que antecede, es 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxi-carbonil-2-indolinona.

Cuando se establece una comparación con otros compuestos, este compuesto es además particularmente preferido debido a su elevada potencia como inhibidor y su mejor perfil toxicológico.

Particularmente preferida es la sal de monoetanosulfonato de este compuesto, es decir la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, dada a conocer, por ejemplo, en la solicitud de patente alemana no publicada DE 102 33 500.1, la PCT/03/07822 no publicada y la solicitud de patente estadounidense no publicada 10/623.971.

De acuerdo con lo que se da a conocer en DE 102 33 500.1, en PCT/03/07822 no publicada y la solicitud de patente estadounidense no publicada 10/623.971, la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona tiene la siguiente estructura química:



ES 2 437 841 T3

Compuesto MES (T) (Sal de monoetanosulfonato del compuesto (T))

5 Este compuesto puede ser obtenido selectivamente mediante una elección adecuada de condiciones de fabricación, preferentemente en su forma hemihidratada cristalina.

Este compuesto está caracterizado por un punto de fusión de $T = 305 \pm 5^\circ\text{C}$ (determinado mediante DSC = calorimetría de barrido diferencial, utilizando un aparato Mettler-Toledo DSC82; velocidad de calentamiento: 10 K/min).

10 Para la fabricación de la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, puede utilizarse un procedimiento de acuerdo con lo que se expone a continuación.

15 El material de partida utilizado para preparar la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona puede ser la base libre 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona, que puede ser obtenida de acuerdo con un método conocido de la técnica anterior y que se describe, por ejemplo, en la WO 01/27081.

20 De este modo, en una primera etapa y de acuerdo con lo que se describe en la WO 01/27081 la 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona se prepara de la siguiente manera.

25 Se disuelven 10,5 g (30,0 mmoles) de 1-acetil-3-(1-etoxi-1-fenilmetilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona (preparada como se describe en la WO 01/27081) y 8,60 g (33,0 mmoles) de N-[(4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil]-N-metil-p-fenilendiamina (preparada como se describe en el documento WO 01/27081) en 80 ml de dimetilformamida y se mezclan durante 1 hora a 80°C . Después de enfriar, se adicionan 6,50 ml de piperidina y se mezcla la totalidad durante 2 horas más a temperatura ambiente. Se agrega agua, se aspira el líquido por encima del precipitado resultante, y se lava el precipitado nuevamente con una pequeña cantidad de agua. El residuo se suspende en 200 ml de metanol, el líquido es aspirado, y el residuo remanente se lava con agua fría y éter dietílico. El producto resultante es secado al vacío a 110°C .

Producto recuperado:	12,4 g (77 % del valor teórico)		
Espectroscopía de IR:	1610, 1655, 1711 cm^{-1}		
$T_{\text{Spf}} =$	253 $^\circ\text{C}$		
35 Fórmula molecular:	$\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_5\text{O}_4$		
Espectroscopía de masa por electronebulización:	$m/z = 540 [\text{M}+\text{H}]^+$		
Análisis elemental:			
Calculado	C 68,99	H 6,16	N 12,98
40 Encontrado	C 68,32	H 6,29	N 12,85

40 En una segunda etapa, y de acuerdo con lo que se da a conocer en la DE 102 33 500.1, se obtendrá la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona de la siguiente manera:

45 Se suspenden 605 g (1,12 mmoles) de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona en 9 litros de metanol y se calienta a 50°C . Se adicionan 183,7 g (1,121 moles) de una solución acuosa al 70 % de etanosulfonato. La solución resultante se enfría a 40°C y se mezcla con 4,5 litros de éter terc-butílmético. La cristalización tiene lugar después de unos pocos minutos. A fin de lograr una precipitación completa, el conjunto es mezclado durante 16 horas a temperatura ambiente. Después de enfriar a una temperatura de 10°C , el líquido es aspirado, siendo el precipitado lavado con 2 litros de éter terc-butílmético y secado al vacío a 40°C .

Producto recuperado:	638 g (87,6 % del valor teórico)
$T_{\text{Spf}} =$	$305^\circ \pm 5^\circ\text{C}$ (DSC 10 K/min)
Pureza (medida por HPLC):	99,4 %
55 Contenido de agua:	1,0 a 2,0 % (KF)

La sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metil-carbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona puede ser muy fácilmente disuelta en agentes de solubilización fisiológicamente aceptables.

60 Adicionalmente el compuesto MES (T) es oralmente biodisponible en ratones.

La sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonyl)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonyl-2-indolinona inhibe la quinasa de VEGFR-2 humana (huVEGFR-2) con un CI_{50} de 21 nM, la quinasa de VEGFR-2 murina (muVEGFR-2) con un CI_{50} de 13 nM, y la proliferación de células endoteliales estimuladas por VEGF (HUVEC: CI_{50} = 9 nM, HSMEC: CI_{50} = 12 nM).

- 5 Además, el FGFR-1 y el PDGFR α , dos miembros de la familia de dominio de quinasa dividida de receptores importantes en la señalización angiogénica, son inhibidos adicionalmente por este compuesto con CI_{50} 's de 69 nM y 59 nM respectivamente.
- 10 El compuesto MES (T) es por lo tanto altamente selectivo cuando se lo ensaya frente a un panel de numerosas quinasas diferentes, como se muestra en la Tabla 1 siguiente.

Tabla 1

Quinasa	CI_{50} [nM]
huVEGFR-2	21
muVEGFR-2	13
VEGFR-3	13
InsR	> 4000
IGF1R	> 1000
EGFR	> 50000
HER2	> 50000
FGFR1	69
FGFR3	137
PDGFR α	59
CDK1	> 10000
CDK2	> 10000
CDK4	> 10000
Lck	16
Lyn	195
Src	156

- 15 Notable es también que este antagonista específico muestra una inhibición de larga duración del receptor VEGFR-2. A nivel molecular y celular es suficiente una breve exposición del compuesto MES (T) en relación a las células (por ejemplo, células endoteliales) para inhibir la activación de la quinasa de receptor misma y las moléculas de señalización corriente abajo (por ejemplo, la quinasa de MAP, MAPK) así como también la proliferación celular durante al menos 32 horas.

- 20 Los resultados del siguiente experimento evidencian este efecto de inhibición de larga duración. A fin de determinar la duración de la inhibición inducida por MES (T) sobre el receptor, se llevaron a cabo experimentos de aluvión ("washout"). Se expusieron a MES (T) células de HUVEC y NIH 3T3 KDR durante un período limitado de tiempo, se eliminó el MES (T) por lavado y se analizó la proliferación celular (HUVEC) o la activación / fosforilación de VEGFR-2
- 25 después de varios períodos de tiempo. Como se muestra en la Figura 1, la autofosforilación de VEGFR-2 es bloqueada durante al menos 32 h después de una exposición de 1 h con MES (T) 50 nM. Después de 8 h, 24 h, y 32 h sin MES (T), las células fueron nuevamente estimuladas con VEGF y se analizó la activación del receptor. Incluso después de 32 h no se podía observar activación del receptor. Esto sugiere fuertemente que el MES (T) exhibe efectos sostenidos sobre la quinasa de receptor aún cuando la concentración en plasma de MES (T) sea muy baja.

- 30 Los resultados del siguiente experimento de heteroinjerto *in vivo* evidencian el efecto sobre células tumorales del compuesto MES (T). A fin de determinar este efecto, ratones sin pelo ("nude") que portaban tumores FaDu subcutáneos (los tumores FaDu están constituidos por células de carcinoma escamoso humano) fueron tratados oralmente con el compuesto MES (T). Como se muestra en la Figura 2, en los casos en los que los ratones fueron tratados dos veces por semana con una dosis de 100 mg/kg, se pudo apreciar una reducción de crecimiento de tumor con un valor de T/C (Tumor/Control) de 31 %. Incrementando la dosis a 200 mg/kg por vía oral dos veces por semana se puede esperar un efecto antitumoral aún mejor.
- 35

Esto indica que este antagonista es particularmente adecuado para una co-administración y/o co-tratamiento secuencial con un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional y/o radioterapia o radioinmunoterapia. El régimen de tratamiento programado con este antagonista puede ser, por ejemplo, un tratamiento alternativo de un día sí / un día no, un día sí / dos días no, una semana sí / una semana no, o incluso dos semanas sí / dos semanas no.

La sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona es por consiguiente evidentemente un inhibidor de quinasa de VEGFR-2 y agente antitumoral potente y oralmente disponible.

En relación a todos los aspectos de la invención, los antagonistas del receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionados adecuados son también los metabolitos activos *in vivo* del antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado. Por ejemplo, un metabolito activo *in vivo* del antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona puede ser el compuesto sin esterificar 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-carbonil-2-indolinona.

- El agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional

Este compuesto se puede seleccionar preferentemente de las siguientes clases y ejemplos de compuestos.

- Antagonistas de receptor de factor de crecimiento (GF) de molécula pequeña

Un compuesto preferido en esta clase es el derivado de quinazolina dado a conocer en la WO 02/50043 como el compuesto ejemplificado del ejemplo 1 (10), es decir, 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetra-hidrofuran-3-iloxi]-quinazolina o los tautómeros, los estereoisómeros y las sales del mismo, particularmente las sales fisiológicamente aceptables del mismo con ácidos o bases inorgánicas u orgánicas. La más preferida es la sal del ácido di-maleico de este compuesto, que puede ser fácilmente obtenida de acuerdo con el siguiente procedimiento: 6,0 kg (12,35 moles) de 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina son calentados a 70°C en 84 litros de etanol. Se adiciona una solución de 2,94 kg (25,31 moles) de ácido maleico en 36 litros de etanol. Al comienzo de la cristalización, la mezcla de reacción se enfría a 20°C y se agita durante 2 horas. La mezcla de reacción es enfriada a 0°C y se agita durante 3 horas. El precipitado es filtrado con succión. La torta de filtrado se lava con 19 litros de etanol y se seca al vacío a 40°C.

- Compuestos que interactúan con ácidos nucleicos y que se clasifican como agentes alquilantes o compuestos de platino

Ya se han descrito compuestos que interactúan con ácidos nucleicos y que se clasifican como agentes alquilantes o compuestos de platino para su utilización para el tratamiento de enfermedades de naturaleza oncológica. Un ejemplo representativo es carboplatino.

- Inhibidores de mitosis, agentes antimitóticos, o inhibidores del ciclo celular

Clases y ejemplos representativos de compuestos de interés son los fármacos anticancerosos procedentes de plantas, tales como los taxanos (paclitaxel o taxol, docetaxel o taxotere).

En otra realización preferida de acuerdo con la presente invención, el agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional es seleccionado del fármaco anticanceroso procedente de plantas paclitaxel (taxol), docetaxel o taxotere, el compuesto de platino carboplatino, o el derivado de quinazolina 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización preferida de acuerdo con la presente invención, el agente quimioterapéutico o terapéutico de procedencia natural, semi-sintético o sintético adicional es seleccionado del derivado de quinazolina mencionado anteriormente dado a conocer en el documento WO 02/50043 como compuesto ejemplificado del ejemplo 1 (10), es decir, 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidro-furan-3-iloxi)-quinazolina o los tautómeros, los estereoisómeros y las sales del mismo, particularmente las sales fisiológica y farmacéuticamente aceptables del mismo con ácidos o bases inorgánicas u orgánicas.

En otra realización preferida de acuerdo con la presente invención, el agente quimioterapéutico o terapéutico de procedencia natural, semi-sintético o sintético adicional es seleccionado de la sal del ácido di-maleico del compuesto 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o los tautómeros o estereoisómeros del mismo.

- Terapia de radiación, radioinmunoterapia o radioinmunoterapia pre-dirigida

La terapia de radiación, la radioinmunoterapia o la radioinmunoterapia pre-dirigida se emplean para el tratamiento de enfermedades de naturaleza oncológica. "Radioterapia" o terapia de radiación, significa el tratamiento del cáncer y de otras enfermedades con radiación ionizante. La radiación ionizante deposita energía que lesiona o destruye células en el área que se está tratando (el tejido diana) dañando su material genético, haciendo imposible que estas células continúen creciendo. La radioterapia puede ser utilizada para tratar tumores sólidos localizados, tales como cánceres de piel, de lengua, de laringe, de cerebro, de mama, de pulmón o de cuello del útero. También se puede emplear para tratar leucemias o linfoma, es decir, cánceres de las células formadoras de sangre y del sistema linfático, respectivamente. Un tipo de terapia de radiación utilizada comúnmente involucra fotones, es decir, rayos X. Dependiendo de la cantidad de energía que éstos poseen, los rayos pueden ser usados para destruir células cancerosas en la superficie de o más profundamente en el cuerpo. Cuanto más elevada es la energía del haz de rayos X, más profundamente pueden penetrar los rayos X en el tejido diana. Los aceleradores lineales y betatrones son máquinas que producen rayos X de energía crecientemente mayor. El uso de máquinas para enfocar la radiación (tal como rayos X) sobre un lugar donde se encuentra el cáncer se denomina radioterapia de rayo externa. Los rayos gamma son también otra forma de fotones utilizados en radioterapia. Los rayos gamma son producidos espontáneamente a medida que ciertos elementos (tales como radio, uranio, y cobalto 60) liberan radiación al descomponerse, o desintegrarse. Otra técnica para suministrar radiación a células cancerosas es colocar implantes radioactivos directamente en un tumor o cavidad corporal. Esto se denomina radioterapia interna. La braquiterapia, la irradiación intersticial, y la irradiación intracavitaria son tipos de radioterapia interna. En este tratamiento, la dosis de tratamiento se concentra en un área pequeña, permaneciendo el paciente en el hospital por unos pocos días. La radioterapia interna es frecuentemente empleada para cánceres de la lengua, del útero, y del cuello. Otra técnica es la irradiación intraoperativa, en la cual un gran dosis de radiación externa es dirigida al tumor y tejidos circundantes en el curso de una cirugía. Otro enfoque es la terapia de radiación por haz de partículas. Este tipo de terapia difiere de la radioterapia de fotones por que involucra el uso de partículas subatómicas de movimiento rápido para tratar cánceres localizados. Algunas partículas (neutrones, piones, e iones pesados) depositan más energía a lo largo del recorrido que adoptan a través del tejido de lo que lo hacen los rayos X o los rayos gamma, causando de tal modo más daño a las células que tocan. A este tipo de radiación se hace referencia a menudo como radiación de transferencia de energía lineal alta (alta LET). Los radiosensibilizadores hacen que las células sean más proclives a ser dañadas, y los radioprotectores protegen los tejidos normales de los efectos de la radiación. La hipertermia, el uso de calor, también puede ser utilizada para sensibilizar tejido a la radiación. Otra opción implica el uso de anticuerpos radiomarcados para suministrar dosis de radiación directamente al lugar donde se encuentra el cáncer (radioinmunoterapia). Existen numerosos métodos disponibles en la técnica para vincular un radioisótopo a un anticuerpo. Por ejemplo, para la radioyodación del anticuerpo, se puede utilizar un método dado a conocer en la WO 93/05804. Otra opción es emplear una molécula de unión entre el anticuerpo y el radioisótopo, por ejemplo, MAG 3 (US 5,082,930; EP 0 247 866), MAG-2 GABA (US 5,681,927; EP 0 284 071), y N2S2 (fentioato; US 4,897,255; US 5,242,679; EP 0 188 256). Otra opción es la radioinmunoterapia pre-dirigida, que puede ser usada para minimizar la toxicidad de la radiación mediante la separación del anticuerpo de circulación larga y el radionucleido rápidamente eliminado (Drugs of the future 2003, 28 (2), páginas 167-173). Son accesibles para el experto protocolos detallados para radioterapia (Cancer Radiotherapy: Methods and Protocols (Methods in Molecular Medicine), Huddart R. A. Ed., Human Press, 2002). El experto sabe como determinar una dosis y programa de aplicación apropiados, en función de la naturaleza de la enfermedad y de la constitución del paciente. En particular, el experto sabe por consiguiente como estimar la toxicidad de limitación de dosis (DLT) y como determinar la dosis máxima tolerada (MTD) en cada caso.

• Terapias de co-administración y/o de co-tratamiento

La co-administración del antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado y el agente quimioterapéutico adicional o un agente terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional, y/o el co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, pretende incluir la administración y/o tratamiento secuencial en tiempo o administración y/o tratamiento simultáneo. Para la administración y/o tratamiento secuencial, el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado puede ser administrado antes o después de la administración del agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional, y/o antes o después de tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia.

Los compuestos activos pueden ser administrados por vía oral, bucal, parenteral, por spray de inhalación, rectal o tópica, siendo preferida la administración oral. La administración parenteral puede incluir inyecciones subcutánea, intravenosa, intramuscular e intraesternal y técnicas de infusión.

Los compuestos activos pueden ser administrados oralmente en una amplia variedad de diferentes formas de dosificación, es decir, los mismos pueden ser formulados con varios vehículos inertes farmacéuticamente aceptables en la forma de comprimidos, cápsulas, pastillas, trociscos, caramelos duros, polvos, sprays, suspensiones acuosas, elixires, jarabes, y similares. Tales vehículos incluyen diluyentes o rellenos sólidos, medios acuosos estériles y diversos solventes orgánicos no tóxicos. Además, tales formulaciones farmacéuticas orales pueden ser convenientemente endulzadas y/o saborizadas por medio de varios agentes del tipo comúnmente utilizados para tales propósitos. En general, los compuestos de esta invención están presentes en tales formas de dosificación oral a niveles de concentración que oscilan entre aproximadamente 0,5 % y aproximadamente 90 % en peso de la composición total, en cantidades que sean suficientes para proporcionar la dosificaciones unitarias deseadas. Otras formas de dosificación

adecuadas para los compuestos de esta invención incluyen formulaciones de liberación controlada y dispositivos bien conocidos por aquéllos que tienen práctica en la especialidad.

5 Para la administración oral, pueden utilizarse comprimidos que contienen diversos excipientes tales como citrato de sodio, carbonato de calcio y fosfato de calcio conjuntamente con varios desintegrantes tales como almidón y preferentemente almidón de patata o de tapioca, ácido alginico y ciertos silicatos complejos, además de agentes aglutinantes tales como polivinilpirrolidona, sacarosa, gelatina y goma arábica. Adicionalmente, se pueden también utilizar agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco o composiciones de un tipo similar como rellenos en cápsulas de gelatina rellenas blanda y dura; incluyendo lactosa o azúcar de leche así como también polietilen glicoles de elevado peso molecular. Cuando se desean suspensiones acuosas y/o elixires para administración oral, el ingrediente activo esencial en las mismas puede ser combinado con varios agentes edulcorantes o saborizantes, sustancias colorantes o tintes y, si así se desea, agentes emulsionantes y/o agua, etanol, propilen glicol, glicerina y diversas combinaciones de los mismos.

15 Para la administración oral, una formulación farmacéutica especialmente adecuada para el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado de acuerdo con la presente invención consiste en cápsulas de gelatina blanda. Cápsulas de gelatina blanda adecuadas para el encapsulamiento de compuestos farmacéuticos y el proceso para su preparación se describen, por ejemplo, en la patente GB Nº 395546; la patente US Nº 2.720.463; la patente US Nº 2.870.062, la patente US Nº 4,829,057; y en las siguientes publicaciones: ANON (Verpack-Rundsch., Vol 21, Nº 1, enero de 1970, páginas 136-138; Lachman y otro(s), (The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, capítulo 13, publicado por Lea y Febiger, 1970), Ebert (Soft Gelatine Capsules: An Unique Dosage Form, reimpresión de Pharmaceutical Technology, octubre 1977) y R. P. Jimerson (Soft Gelatine Capsules Update, Drug Development and Industrial Pharmacy, Vol. 12 (8 y 9), páginas 1133-1144, 1986).

25 Para la administración parenteral, pueden emplearse soluciones de compuestos en aceite de sésamo o de maní o en propilenglicol acuoso, así como también soluciones acuosas estériles de las sales farmacéuticamente aceptables correspondientes. Tales soluciones acuosas deberán estar adecuadamente tamponadas si es necesario, haciendo el diluyente líquido isotónico con suficiente cloruro de sodio o glucosa. Estas soluciones acuosas particulares son especialmente apropiadas para propósitos de inyección intravenosa, intramuscular y subcutánea. En este contexto, los medios acuosos estériles empleados son fácilmente obtenidos mediante técnicas estándar bien conocidas por aquellos con experiencia en la especialidad. Por ejemplo, el agua destilada es corrientemente utilizada como el líquido diluyente y la preparación final se hace pasar a través de un filtro bacteriano adecuado tal como un filtro de vidrio sinterizado o una tierra de diatomeas o un filtro de porcelana no vidriada. Filtros preferidos de este tipo incluyen los filtros Berkefeld, los Chamberland y los Seitz de disco metálico de amianto, siendo el fluido aspirado hacia dentro de un recipiente estéril con la ayuda de la bomba de succión. Deberán ser tomadas las medidas necesarias a lo largo de toda la preparación de estas soluciones inyectables para asegurar que los productos finales sean obtenidos en una condición estéril.

40 Para la administración transdérmica, la forma de dosificación del compuesto o compuestos particulares puede incluir, a título de ejemplo, soluciones, lociones, ungüentos, cremas, geles, supositorios, formulaciones de liberación sostenida que limitan la velocidad y dispositivos para la misma. Tales formas de dosificación comprenden al compuesto o compuestos particulares y puede incluir etanol, agua, intensificador de penetración y vehículos inertes tales como materiales productores de gel, aceite mineral, agentes emulsionantes, alcohol bencílico y similares.

45 De acuerdo con una realización, el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, o su polimorfo o sal farmacéuticamente aceptable, puede ser administrado en una dosis diaria de modo tal de que el nivel plasmático de la sustancia activa se encuentre entre 10 y 500 ng/ml durante al menos 12 horas de un intervalo de dosificación de 24 horas.

50 De acuerdo con otra realización, el antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado, o su sal farmacéuticamente aceptable, puede ser administrado en una dosis diaria de entre 2 mg y 20 mg / kg de peso corporal.

55 El agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional, puede ser administrado utilizando formas de dosificación, niveles de dosificación y dispositivos adecuados bien conocidos por aquéllos que tienen práctica en la técnica.

60 Como ya se ha mencionado precedentemente, el experto dispone con facilidad de protocolos detallados para radioterapia. El experto sabe como determinar una dosis y un programa de aplicación apropiados, en función de la naturaleza de la enfermedad y de la constitución del paciente. En particular, el experto sabe en concordancia con esto como estimar la toxicidad de limitación de dosis (DLT) y como determinar la dosis máxima tolerada (MTD) en cada caso.

Estudios de combinación *in vitro* e *in vivo* que muestran la potencia para inhibir la proliferación y/o inducir la apoptosis de células tumorales

En los siguientes ejemplos de combinaciones, los experimentos *in vitro* con líneas celulares representativas o los experimentos *in vivo* con ratones sin pelo ("nude") que portan tumores específicos ilustran la potencia de la combinación de un antagonista de receptor de protein-tirosin-quinasa seleccionado con un agente quimioterapéutico o terapéutico sintético, semi-sintético, o natural adicional y/o con radioterapia para inhibir la proliferación de células endoteliales o tumorales y/o para inducir la apoptosis de células tumorales. Estos ejemplos son por lo tanto ilustrativos de la presente invención.

Ejemplos de combinaciones

1. Combinación de un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y de un antagonista dual del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del factor de crecimiento epidérmico humano de tipo 2 (HE tipo 2), para el tratamiento de cáncer de próstata, de cáncer pulmonar de célula no pequeña y de cáncer colorrectal.

El siguiente experimento se llevó a cabo a fin de investigar el efecto de una terapia de combinación con dosis subóptimas de un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, es decir, la sal de dicloruro de Z-3-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metil-carbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona (compuesto al que se hará referencia como C12 (T)), que es la sal de dicloruro del compuesto (T) anteriormente ejemplificado, y un antagonista dual del receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) y del receptor de factor de crecimiento epidérmico humano de tipo 2 (HE tipo 2), es decir, el compuesto 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina (compuesto al que se hará referencia como inh. de EGFR/HER2, y que se describe en la WO 02/50043 como compuesto ejemplificado del ejemplo 1 (10), sobre la reducción del crecimiento de tumores, en comparación con las monoterapias a las mismas dosis.

Para este propósito, ratones sin pelo ("nude") (NMRI nu/nu) fueron inyectados subcutáneamente con células SKOV-3 (carcinoma ovárico humano). Los ratones que portaban tumores establecidos fueron distribuidos al azar en grupos de control y tratamiento (N = 10). Los ratones en el grupo de control recibieron la solución de vehículo (natrosol al 0,5 %), el segundo grupo fue tratado diariamente por vía oral con 15 mg/kg de inh. de EGFR/HER2, el tercero recibió una vez por día 50 mg/kg de C12 (T), y el cuarto grupo de ratones fue tratado con la combinación de 15 mg/kg de inh. de EGFR/HER2 y 50 mg/kg de C12 (T). La Figura 3 muestra los resultados del experimento.

El tratamiento diario por vía oral se llevó a cabo inicialmente durante 31 días. En este punto algunos de los ratones del grupo de control llevaban tumores de más de 2000 mm³ y en consecuencia tuvieron que ser sacrificados. La relación de tumor tratado respecto de tumor de control (T / C) calculada en este punto era de 35 % para el grupo tratado con 15 mg/kg de inh. de EGFR/HER2, 32 % para el grupo tratado con 50 mg/kg de C12 (T) y 13 % para el grupo tratado con la combinación. Este resultado demuestra claramente el efecto antitumoral de la combinación de un inhibidor de VEGFR-2 y de EGFR/HER2 *in vivo*. Además, la continuación del tratamiento hasta el día 64 muestra crecimiento de tumor extremadamente bajo en el grupo de combinación en comparación con el grupo de tratamiento único en el cual los tumores crecen eventualmente con tamaños comparables al igual que los tumores tratados de control.

De los resultados de este experimento, se puede concluir por lo tanto que la combinación de compuestos dirigida a diferentes mecanismos involucrados en e importantes para el crecimiento tumoral tales como el inhibidor de VEGFR-2 C12 (T), que inhibe la angiogénesis tumoral, y el inhibidor de EGFR/HER-2, inh. de EGFR/HER2, combinado, que inhibe la señalización proliferativa a través de las quinasas de tirosina de receptor clase I, tiene una eficacia antitumoral sinérgica.

2. Combinación de un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (el compuesto MES (T)), y de un fármaco anticanceroso procedente de plantas (paclitaxel o taxol), para el tratamiento de carcinoma ovárico, cáncer pulmonar de célula pequeña o cáncer de próstata.

3. Combinación de un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosin-quinasa de src, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (el compuesto MES (T)), y de un fármaco anticanceroso procedente de plantas (taxotere), para el tratamiento de cáncer de próstata.

4. Combinación de un antagonista de al menos un receptor seleccionado de VEGFR1 a 3, PDGFR α y β , FGFR1, 2 y 3, EGFR, HER2, IGF1R, HGFR o c-kit, que es además un antagonista de un miembro de la familia de la tirosinquinasa de src, o un polimorfo, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable del mismo (el compuesto MES (T)), y de un compuesto de platino (carboplatino), para el tratamiento de carcinoma ovárico o cáncer pulmonar de célula no pequeña.

Esencialmente, para el tratamiento de enfermedades oncológicas, la razón de ser para el tratamiento de combinación de acuerdo con la presente invención es que existe una ventaja terapéutica para el paciente de cáncer al combinar moléculas específicas y que actúan mecánicamente con conceptos terapéuticos que obran con más amplitud de la siguientes maneras:

- por medio de la combinación las células diana tendrán menos posibilidades de supervivencia a través de posibles mecanismos de escape;
- cuando se establece una comparación con las dosis empleadas en una monoterapia, debido a un efecto aditivo o sinérgico de la combinación, las dosis respectivas requeridas de los fármacos pueden reducirse;
- la programación de los fármacos respectivos en una combinación reduce la probabilidad de que las células tumorales desarrollen resistencias contra los fármacos, conduce a una mejor transferencia de ciertos fármacos al tumor (reducción de presión intratumoral) y puede activar otros pasajes de muerte en las células tumorales.

De este modo, al tomar como blanco diferentes estructuras celulares y compartimentos, se espera que las terapias de combinación de acuerdo con la presente invención proporcionen un beneficio clínicamente relevante en supervivencia o tiempo para la progresión de tumores para una población de pacientes mayor que las monoterapias correspondientes. Como un resultado de la terapia anti-angiogénica específica con, por ejemplo, el compuesto MES (T), los tumores parecen ser menos capaces de recuperarse del daño causado por la quimioterapia convencional. También, al bloquear los efectos del VEGF sobre la permeabilidad vascular, parece tener lugar una disminución de la presión intersticial en los tumores, permitiendo una mayor penetración de los fármacos citotóxicos. La terapia de mantenimiento con un agente anti-angiogénico específico tal como, por ejemplo, el compuesto MES (T), después de citorreducción estándar, parece también dar como resultado una consolidación de la respuesta obtenida con la terapia citotóxica. Este planteamiento es sustanciado por evidencia pre-clínica que muestra que las combinaciones de compuestos anti-angiogénicos con terapias citotóxicas dan como resultado una actividad antitumoral sinérgica.

Leyendas de las figuras

FIGURA 1

Inhibición de fosforilación de VEGFR-2 después de varias exposiciones al compuesto MES (T) sobre células NIH3T3 KDR. El panel superior muestra un Western blot ensayado con un anticuerpo específico para residuos de tirosina fosforilados (α -PY). El panel inferior muestra un Western blot utilizando un cuerpo específico para VEGFR-2 (α -KDR).

FIGURA 2

Evolución del volumen tumoral en ratones sin pelo ("nude") que portaban tumores FaDu subcutáneos, sin tratar (línea de guiones), tratados oralmente dos veces por semana con una dosis de 50 mg/kg de compuesto MES (T) (línea negra), o tratados oralmente dos veces por semana con una dosis de 100 mg/kg de compuesto MES (T) (línea gris).

FIGURA 3

Evolución del volumen tumoral en ratones sin pelo ("nude") que portaban tumores de cáncer ovárico SKOV-3 subcutáneos, sin tratar (guiones), tratados diariamente por vía oral con 15 mg/kg de inh. de EGFR/HER2 (triángulos), tratados diariamente con 50 mg/kg de CI2 (T) (cuadrados), o tratados con la combinación de 15 mg/kg de inh. de EGFR/HER2 y 50 mg/kg de CI2 (T) (rombos).

REIVINDICACIONES

1. Una combinación farmacéutica que comprende cantidades efectivas de
- (i) (Z)-3-(1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y
- 5 (ii) un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, seleccionado del grupo que consiste en el antagonista dual de EGFR/HER2 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable, los tautómeros o los estereoisómeros de la misma, el compuesto de platino carboplatino y los fármacos anticancerosos procedentes de plantas paclitaxel o docetaxel,
- 10 y opcionalmente adaptada para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, en forma de una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de tumores sólidos.
2. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (i) es la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona.
- 15 3. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) se selecciona del antagonista dual de EGFR/HER2 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, o los tautómeros o estereoisómeros de la misma.
4. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) se selecciona de la sal del ácido dimaleico de 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina, o los tautómeros o estereoisómeros de la misma.
- 20 5. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) se selecciona del compuesto de platino carboplatino.
6. La combinación farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 1, en donde (ii) se selecciona de los fármacos anticancerosos procedentes de plantas paclitaxel o docetaxel.
- 25 7. La combinación farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en la cual la preparación combinada es para uso en el tratamiento de cánceres urogenitales, cánceres pulmonares, cánceres gastrointestinales, cáncer de cabeza y cuello, mesoteliomas malignos, cáncer de mama, melanoma maligno, o sarcomas óseos y de tejido blando.
- 30 8. Un kit farmacéutico de preparación de combinación para uso en el tratamiento de tumores sólidos, que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de
- (i) (Z)-3-(1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y
- 35 (ii) un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, seleccionado del grupo que consiste en el antagonista dual de EGFR/HER2 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable, los tautómeros o los estereoisómeros de la misma, el compuesto de platino carboplatino y los fármacos anticancerosos procedentes de plantas paclitaxel o docetaxel,
- 40 y opcionalmente adaptada para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, caracterizado porque (i) está comprendido dentro de un primer compartimiento y (ii) está comprendido dentro de un segundo compartimiento, de modo que la administración a un paciente que lo necesite puede ser simultánea, separada o secuencial.
- 45 9. El kit farmacéutico de preparación de combinación de acuerdo con la reivindicación 8, en donde (i) es la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona.
10. El kit farmacéutico de preparación de combinación de acuerdo con la reivindicación 8 ó 9, en donde la formulación de (i) es para administración oral.
11. Uso de una combinación farmacéutica o un kit farmacéutico de preparación de combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para la fabricación de un medicamento, opcionalmente adaptado para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, para tratar tumores sólidos en un cuerpo de mamífero humano o no humano.
- 50 12. Uso de una cantidad efectiva de

- (i) (Z)-3-(1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona o un polimorfo, metabolito o sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y
- (ii) un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, seleccionado del grupo que consiste en el antagonista dual de EGFR/HER2 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable, los tautómeros o los estereoisómeros de la misma, el compuesto de platino carboplatino y los fármacos anticancerosos procedentes de plantas paclitaxel o docetaxel,

para la fabricación de una preparación de combinación farmacéutica, opcionalmente adaptada para un co-tratamiento con radioterapia o radioinmunoterapia, para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de tumores sólidos en un cuerpo de mamífero humano o no humano.

13. El uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde (i) es la sal de monoetanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona.

14. Una combinación farmacéutica o un kit farmacéutico de preparación de combinación de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para uso en el tratamiento de tumores sólidos en un cuerpo de mamífero humano o no humano, opcionalmente con radioterapia o radioinmunoterapia.

15. Una preparación de combinación farmacéutica o un kit farmacéutico de preparación de combinación que comprende una cantidad efectiva de

- (i) (Z)-3-(1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-fenilamino)-1-fenil-metilen)-6-metoxicarbonil-2-indolinona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, y
- (ii) un agente quimioterapéutico o terapéutico natural, semi-sintético o sintético adicional, seleccionado del grupo que consiste en el antagonista dual de EGFR/HER2 4-[(3-cloro-4-fluorfenil)amino]-6-[[4-(N,N-dimetilamino)-1-oxo-2-buten-1-il]amino]-7-((S)-tetrahidrofuran-3-iloxi)-quinazolina o una sal farmacéuticamente aceptable, los tautómeros o los estereoisómeros de la misma, el compuesto de platino carboplatino y los fármacos anticancerosos procedentes de plantas paclitaxel o docetaxel,

para uso en el tratamiento simultáneo, separado o secuencial de tumores sólidos en un cuerpo de mamífero humano o no humano, opcionalmente con radioterapia o radioinmunoterapia.

16. La preparación de combinación farmacéutica o el kit farmacéutico de preparación de combinación de acuerdo con la reivindicación 15, en donde (i) es la sal de metanosulfonato de 3-Z-[1-(4-(N-((4-metil-piperazin-1-il)-metilcarbonil)-N-metil-amino)-anilino)-1-fenil-metilen]-6-metoxicarbonil-2-indolinona.

FIGURA 1

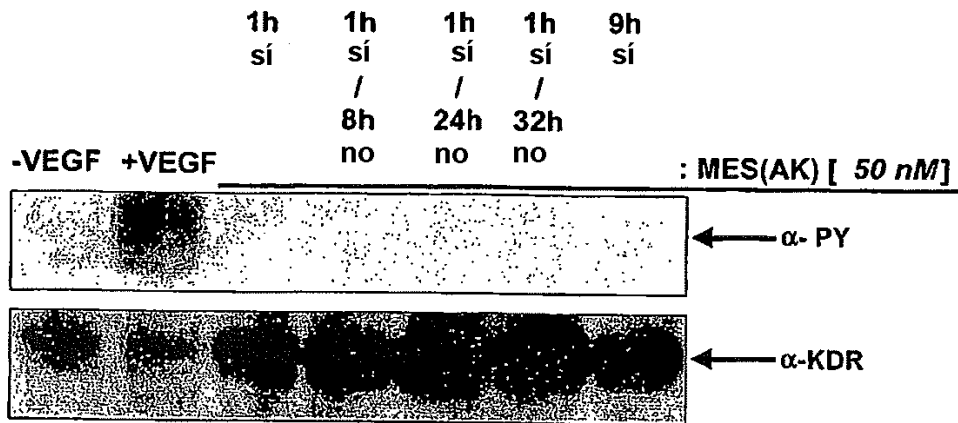


FIGURA 2

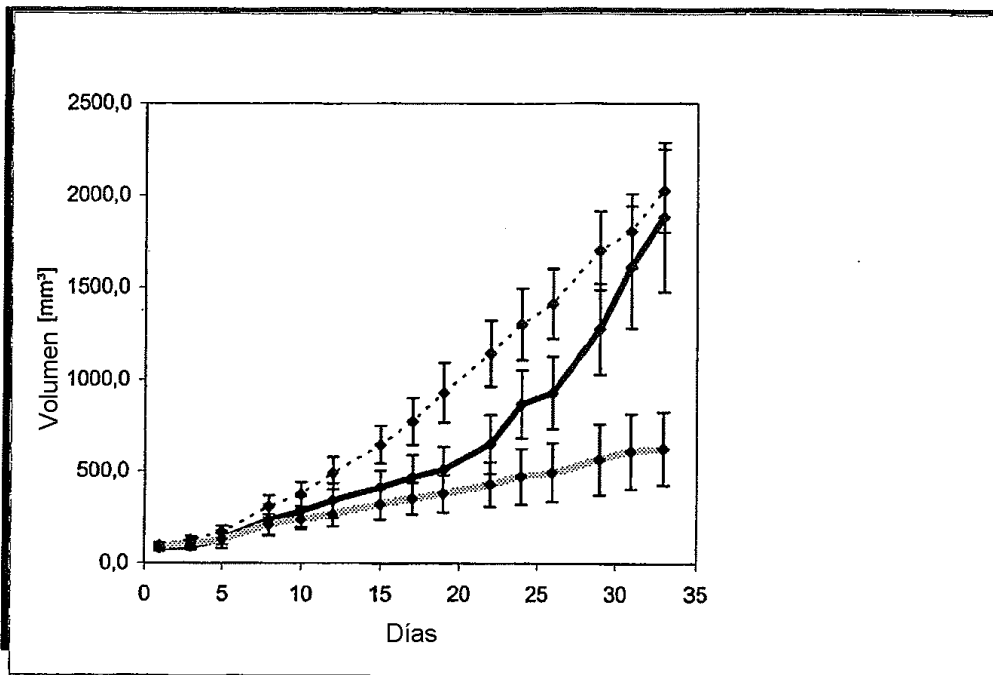


FIGURA 3

